

Laboratoire de
Chimie minérale et de
Chimie analytique

Professeur Denys MONNIER

"Etude analytique de la réaction d'oxydation du
tétraméthyl-diamino-4,4' diphenyl-méthane (Tétrabase)
par la Chloramine T, sous l'effet catalytique de l'iode.
Application au dosage de ce dernier dans les eaux minérales
et la salive, après distillation isothermique".

THESE

Présentée à la Faculté des Sciences de
l'Université de Genève

Pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences chimiques

par

Assa MORTASAWI-SANGUE

de

Téhéran (IRAN)

Thèse No 1516

Téhéran

Imprimerie IRANDOC

1970

Laboratoire de
Chimie minérale et de
Chimie analytique

Professeur Denys MONNIER

"Etude analytique de la réaction d'oxydation du
tétraméthyl-diamino-4,4' diphenyl-méthane (Tétrabase)
par la Chloramine T, sous l'effet catalytique de l'iode.
Application au dosage de ce dernier dans les eaux minérales
et la salive, après distillation isothermique".

THESE

Présentée à la Faculté des Sciences de
l'Université de Genève
Pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences chimiques
par
Assa MORTASAWI-SANGUE
de
Téhéran (IRAN)

Thèse No 1516

Téhéran

Imprimerie IRANDOC

1970

Professeur de Chimie
Monsieur Dr. J. L. L.

Chimie analytique
Monsieur Dr. J. L. L.

"Recherche analytique de la réaction d'oxydation de
l'acétaldéhyde en acide acétique (Tétraose)
par la chloraniline. On a constaté que la
chloraniline se transforme en chloranil dans les
conditions de la réaction."

THÈSE

Présentée à la Faculté des Sciences de

l'Université de Genève



Pour obtenir le grade de Docteur en Sciences chimiques

Par

Monsieur NORBERT LARUE

né

à Genève (France)

Thèse no 1116

Genève

Imprimerie L. S. S.

1970

La faculté des sciences, sur le préavis du professeur
D. MONNIER, directeur de thèse, et d'une commission com-
posée des professeurs D. JANJIC et E. LUCKEN,

autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer
d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

GENEVE, le 1er avril 1970

Le doyen : Marc VUAGNAT

Thèse No 1516

A mon fils Amir-Ferdows

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545925_0044

Ce travail a été effectué au cours des années 1964-1970, sous la direction du Professeur Denys MONNIER, dans le cadre de l'Institut de Chimie minérale et analytique de l'Université de Genève.

Je tiens à exprimer ici ma très profonde gratitude au Professeur Denys MONNIER pour ses conseils précieux qui m'ont permis de mener à bien mes recherches. C'est à lui que vont aussi mes sentiments reconnaissants pour l'aide morale qu'il n'a cessé de m'apporter.

Je remercie le Professeur Desko JANJIC pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à mon travail.

Je remercie également le Fonds national de la Recherche scientifique qui a mis à ma disposition l'appareillage qui m'était indispensable.

J'aimerais remercier enfin tous ceux qui, à l'Ecole de Chimie, ont contribué à l'achèvement de ce travail.

"Etude analytique de la réaction d'oxydation du
tétraméthyl-diamino-4,4' diphenyl-méthane (Tétrabase)
par la Chloramine T, sous l'effet catalytique de l'iode.
Application au dosage de ce dernier dans les eaux minérales
et la salive, après distillation isothermique".

ABREVIATIONS

- TbI : tétrabase incolore
- TbII : tétrabase de coloration bleue
- TbIII : tétrabase de coloration jaune
- Dmax : densité optique maximum de la coloration bleue (TbII)
($\lambda = 600$ nm)
- Tmax : temps (min) correspondant à la Dmax
- Dinfl : densité optique correspondant au point d'inflexion
de la courbe de la variation de la TbIII au cours
du temps ($\lambda = 460$ nm)
- Tinfl : temps (min) correspondant à Dinfl
- Dpalier : densité optique correspondant au milieu du palier
atteint par la TbIII au cours du temps ($\lambda = 460$ nm)
- Tpalier : temps (min) correspondant à Dpalier
- conc. : concentration
- ext. : extérieur(e)
- int. : intérieur(e)

Table des Matières

PREMIERE PARTIE

Dosage colorimétrique de nanogrammes d'iode par une méthode catalytique

I. Introduction

II. Principe de la méthode

III. Etude analytique

1. Réactifs

2. Appareillage

3. Essais préliminaires

- Influence du pH et choix du tampon
- Influence de la concentration de la tétrabase
- Influence de la concentration de la chloramine T
- Influence de la température

IV. Etude du composé jaune TbIII en vue d'un dosage d'iode

- Essais préliminaires
- Relation entre $D_{\max}$ et D_{infl}

V. Méthode de dosage catalytique de l'iode basée sur la coloration bleue de la TbII ou sur la coloration jaune de la TbIII

- Mode opératoire
- Etude de la précision et de la sensibilité de la méthode
- Courbe d'étalonnage basée sur la coloration de la TbII
- Dosage des solutions aqueuses inconnues
- Conclusion
- Courbes d'étalonnage basées sur la coloration de la TbIII
- Conclusion

DEUXIEME PARTIE

Essai d'explication du mécanisme des réactions intervenant dans l'oxydo-réduction de la Tétrabase par la Chloramine T, sous l'effet catalytique de l'iode.

I. Introduction

1. Hydrolyse de la chloramine T
2. Oxydation de la tétrabase (TbI) par la chloramine T

II. Etude cinétique de la réaction

1. Réactions successives (ou consécutives)
2. Ordre de la réaction $TbI \rightarrow TbII$
 - Influence de la concentration de la tétrabase sur la vitesse de la transformation de TbI en TbII et TbIII
 - Rapport des temps de réaction de $TbI \rightarrow TbII$
 - Influence de la concentration du catalyseur sur la vitesse des réactions $TbI \rightarrow TbII \rightarrow TbIII$
 - Rapport des temps de réaction de $TbI \rightarrow TbII$

III. Calculs des constantes de vitesse des réactions

$TbI \rightarrow TbII \rightarrow TbIII$

1. Variation des concentrations de particules TbI, TbII et TbIII au cours du temps
2. Calculs des constantes k_1 et k_2

IV. Influence de la température sur la vitesse de la réaction

- Conclusion

TROISIEME PARTIE

Séparation de nanogrammes d'iode par microdiffusion isothermique et dosage catalytique

I. Introduction

II. Principe de la méthode

III. Etude analytique

1. Réactifs

2. Appareillage

3. Essais préliminaires

- Minéralisation sulfo-chromique

- Mode opératoire

4. Microdiffusion des nanogrammes d'iode

IV. Mode opératoire

- Minéralisation sulfo-chromique

- Réduction d'iodate en iode et diffusion isothermique dans NaOH

- Dosage colorimétrique d'iode

- Courbe d'étalonnage

- Calculs

V. Dosage des solutions aqueuses d'iodure

VI. Dosage d'iode dans quelques Eaux minérales iodées

VII. Dosage d'iode dans une substance biologique : la salive

Conclusion générale

PREMIERE PARTIE

"Dosage colorimétrique de nanogramme d'iode par
une méthode catalytique".

I . Introduction

On a appliqué le dosage de micro et de sub-micro traces d'iode à diverses méthodes analytiques, telles que la spectrométrie (1, 2, 3, 4), la potentiométrie (5, 6, 7), la polarographie (8), l'échange isotopique (9), la catalyse.

Le pouvoir catalysant de cet élément permet en effet d'en déterminer la concentration.

C'est ainsi que SANDELL et KOHLTHOFF (10) en 1937, ont étudié son effet catalysant sur la réaction de Ce IV par AsIII. Cette méthode colorimétrique, dont la sensibilité est de 0,001 $\mu\text{g}/5\text{ml}$, est actuellement la plus utilisée pour doser l'iode dans les milieux où il est à l'état de traces, tels que le sérum sanguin, l'eau, etc.

D'autres auteurs comme TOROPOVA et coll. (11, 12) ont dosé l'iode par son action catalytique sur le système As III/ IO_3^- (sensibilité : 3 ng/ml) et sur la décomposition de BrO_3^- en Br^- (sensibilité 10 ng/ml).

BONGAR et coll. (13) ont étudié le système CeIV/Sb III où l'iode catalyse cette réaction (sensibilité $5 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{g}/5\text{ml}$, précision $\pm 1,7\%$). Par titration "catalymétrique" ces mêmes auteurs (14) ont pu doser 0,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ avec une erreur de $\pm 1,9\%$, en présence de Sb III-CeIV-ferroïne comme indicateur.

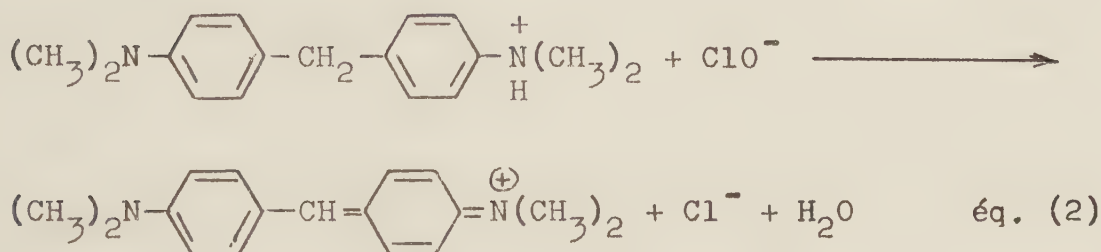
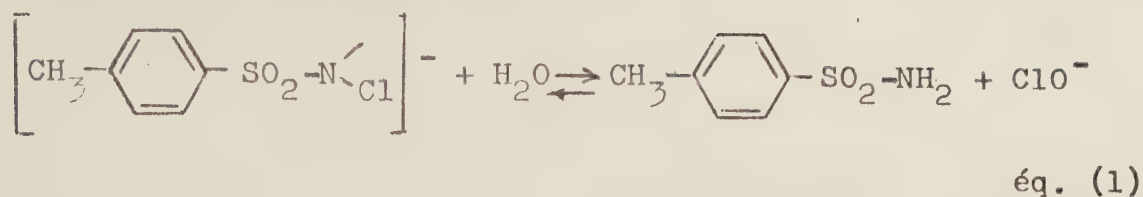
L'iode catalyse aussi la réduction de Fe^{+++} par SCN^- (15, 16, 17), ce qui a permis à YONEHERA (15) de le doser avec une précision de 0,010 $\mu\text{g}/1 \pm 0,0003 \mu\text{g}/1$.

FEIGL et YUNGREIS (18) ont montré que l'iode joue le rôle d'un catalyseur dans l'oxydation d'une tétrabase telle que tétraméthylène-diaminodiphénylméthane, par la chloramine T, et ont proposé cette réaction pour la détection de cet élément.

Nous allons entreprendre une étude détaillée du mécanisme de cette réaction en vue de la mise au point d'une méthode de dosage de l'iode, au cours des chapitres suivants, étude qui n'a pas été faite par JUNGREIS-GEDALIA (19) et BALICZO (20), quand ils ont dosé les traces d'iode dans les eaux et les sels.

BALICZO dose des concentrations de l'ordre de femtogramme ($\text{fg} = 10^{-15}\text{g}$). Il stabilise, la coloration bleue provenant de l'oxydation de la tétrabase par la chloramine T, après un temps connu, par un mélange d'ac. acétique/chloroforme; il titre par une solution de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ 0,001 N jusqu'à décoloration.

II. Principe de la méthode

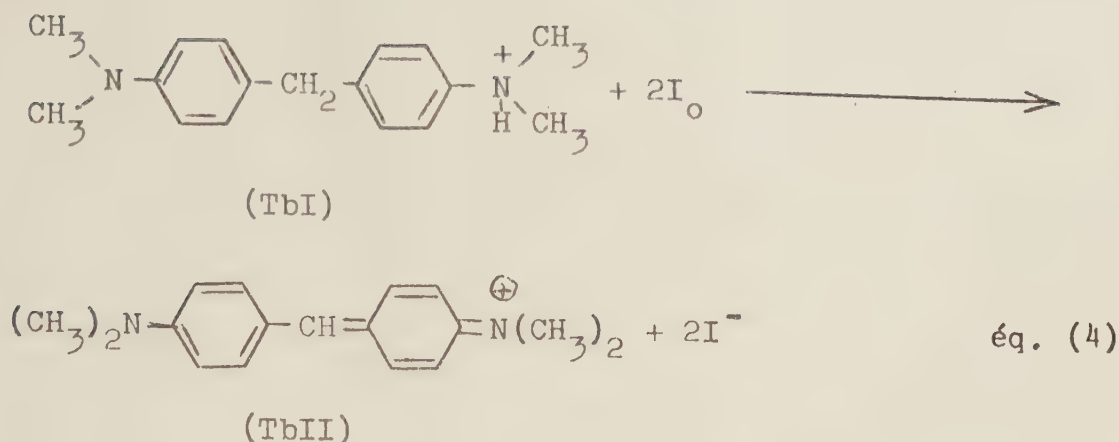


Partant d'une réaction qualitative proposée par FEIGL et YUNGREIS (18) pour la détermination de l'iode, nous avons cherché à l'utiliser pour le dosage de submicro-traces de cet élément.

La chloramine T en solution aqueuse, libère de l'hypochlorite qui oxyde lentement une base telle que le tétraméthyldiaminodiphénylméthane.

En présence de traces d'iode par contre, la vitesse de cette réaction est augmentée.





L'iode catalyse la réaction de l'éq. (2), jouant le rôle du transporteur d'électrons (éq. (3)).

La coloration bleue qui apparaît est peu stable ; son intensité maximum est proportionnelle à la concentration d'iode présent ; la solution vire rapidement au jaune.

La coloration bleue due à la TbII proviendrait de la quinonisation d'un des noyaux benzéniques de la tétrabase, la coloration jaune est due à la transformation de la TbII en TbIII (de formule inconnue). L'intensité de la coloration bleue, ainsi que celle de la coloration jaune est, dans certaines limites, une fonction de la concentration d'iode.

Nous avons étudié le spectre d'absorption des composés impliqués dans les réactions ci-dessus. Celui de la tétrabase (TbI) est donné dans la Fig. 1. et ses formes colorées (TbII et TbIII), dans la Fig. 2.. Le maximum d'absorption de la tétrabase (TbI) est à 250 nm, celui de la forme bleue (TbII) à 600 nm et celui de la forme jaune (TbIII) à 460 nm.

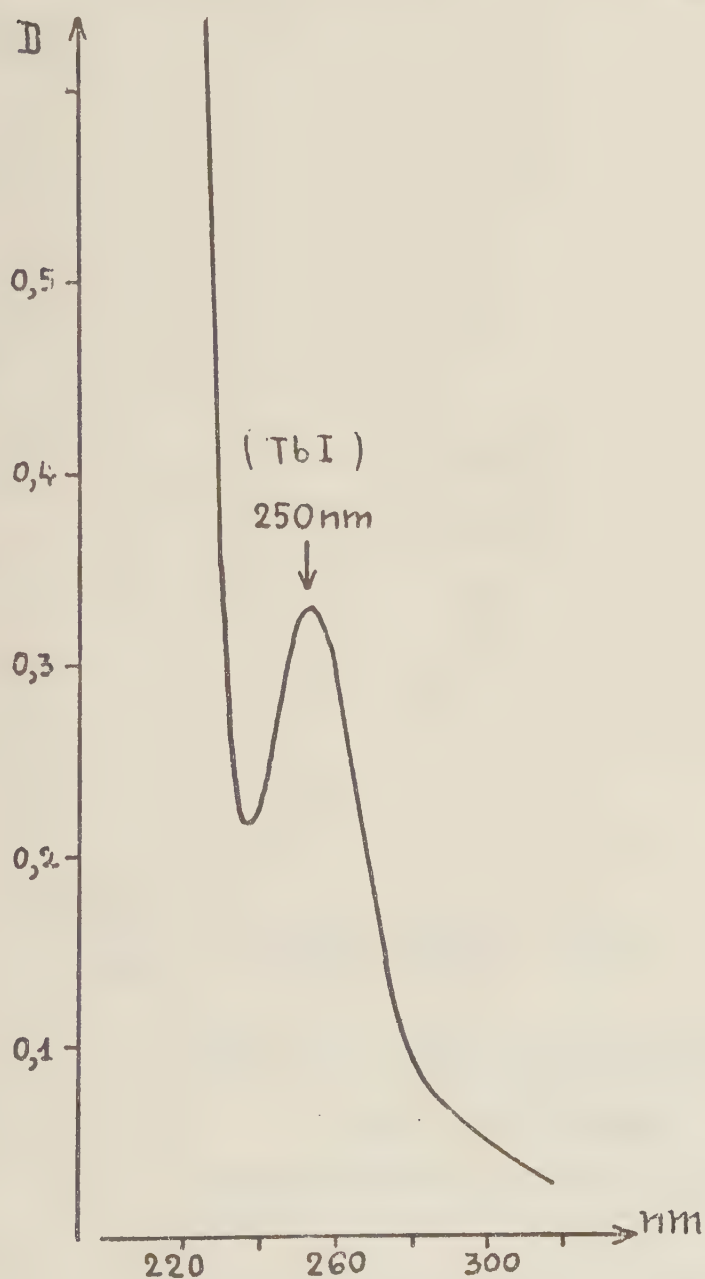


Fig. 1. Spectre
d'absorption de la
tétrabase TbI
 $D = f(\lambda)$

Concentration de la
tétrabase : solution de
 $10^{-5}M$.

Appareil Beckmann DB-G,
cuves en quartz 1 cm.

La courbe de la Fig. 2. a été établie une minute après l'addition de la chloramine T à la solution contenant de l'iode; dans ces conditions les formes TbII et TbIII sont toutes les deux présentes.

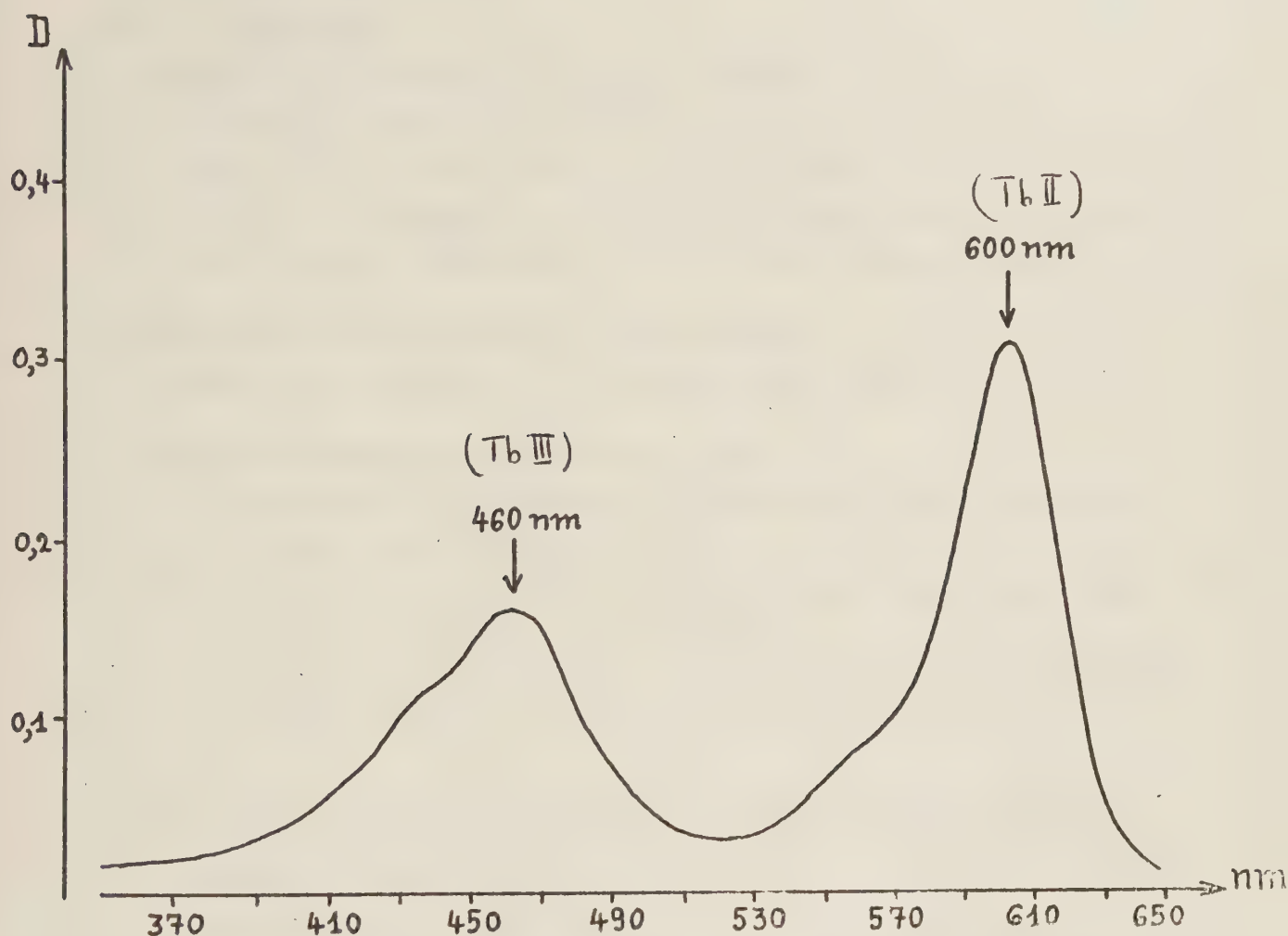


Fig. 2. Spectre d'absorption des formes colorées
de la tétrabase

La solution dont le spectre a été enregistré, contient :
1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} M$, 1 ml de tampon ac. succinique-borax de pH 5,2, 1 ml de solution d'iodure à 100 ng/ml, 4 ml de H_2O trid. et 1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} M$ (vol. total, 8 ml).

Appareil Beckman DB-G, cuves en verre de 1 cm.

Le max. d'absorption pour la coloration bleue est $\lambda = 600 \text{ nm}$ et pour la coloration jaune $\lambda = 460 \text{ nm}$.

III. Etude Analytique

III. 1. Réactif

- Solution de Tétrabase (Fluka A 57587)
 - solution stock : $6,3 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ soit 1,6 g de tétrabase dans 100 ml d'ac.acétique 2N, à chaud
 - solution d'emploi : $12,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, soit 2 ml de la solution stock, complétés à 100 ml avec de l'eau trid.
- Solution de Chloramine T (Merck 2426)
 - solution à $8,16 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, dans l'eau trid.
- Solution Standard de IK (Merck 5043)
 - A : solution à 20 mg de I /100 ml H_2O , soit une concentration de $1,58 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.
 - B : 1 ml de A complété à 100 ml d'eau trid., soit une concentration de $1,58 \cdot 10^{-5} \text{ M}$.
 - C : 5 ml de B complétés à 100 ml d'eau trid., soit une concentration de $7,89 \cdot 10^{-7} \text{ M}$. (100 ng/ml).
- Solutions de mélanges tampons (produit Merck p.analys)
 - ac.acétique 0,2 M/acétate de Na 0,2 M ; pH des mélanges compris entre 3,6 à 5,6.
 - ac.citrique 0,1 M/ PO_4HNa_2 0,2 M ; pH des mélanges compris entre 2,8 à 5,6.
 - ac.succinique 0,2 M/ NaOH 0,2 M ; pH des mélanges compris entre 2,8 à 5,6.
 - ac.succinique 0,05 M/borax 0,05 M ; pH des mélanges compris entre 3,0 à 5,8.

III. 2. Appareillages

- Spectrophotomètre Beckman DB-G
- Cuves colorimétriques de 1 cm en verre ou en quartz
- pHmètre Metrohm

III. 3. Essais préliminaires

Dans une éprouvette, on place 1 ml de tampon de pH 5,2, 1 ml de la solution de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4}$ M, 1 ml de la solution standard d'iode à concentration désirée, 4 ml d'eau trid., 1 ml de la solution de chloramine T fraîchement préparée (volume total, 8 ml). Après agitation, on transvase aussi rapidement que possible dans des cuves colorimétriques de 1 cm. et on enregistre au colorimètre la variation de l'intensité de la coloration bleue à 600 nm par rapport à l'eau trid.

La densité optique croît au cours du temps, passe par un maximum, s'affaiblit presque aussi rapidement, puis garde une valeur constante (Fig. 3.).

En faisant varier la concentration d'iode et en maintenant les autres facteurs constants, on remarque que :

- la densité optique maximum est proportionnelle à la concentration d'iode;
- la densité optique maximum est atteinte approximativement après le même temps, quelle que soit la concentration d'iode.

Nous désignons par D_{max} : la densité optique maximum mesurée par rapport à l'eau et par T_{max} : le temps pour l'obtenir.

Le blanc présente une D_{max} très peu accentuée.

Pour des concentrations comprises entre 20 à 120 ng/ml, la densité optique maximum (D_{max}) est atteinte après 0,62 à 0,63 min.

La Fig. 3. montre que la D_{max} dépend de la concentration en iode; en outre, elle dépend du pH, de la concentration de la tétrabase, de la concentration de la chloramine T et de la température.

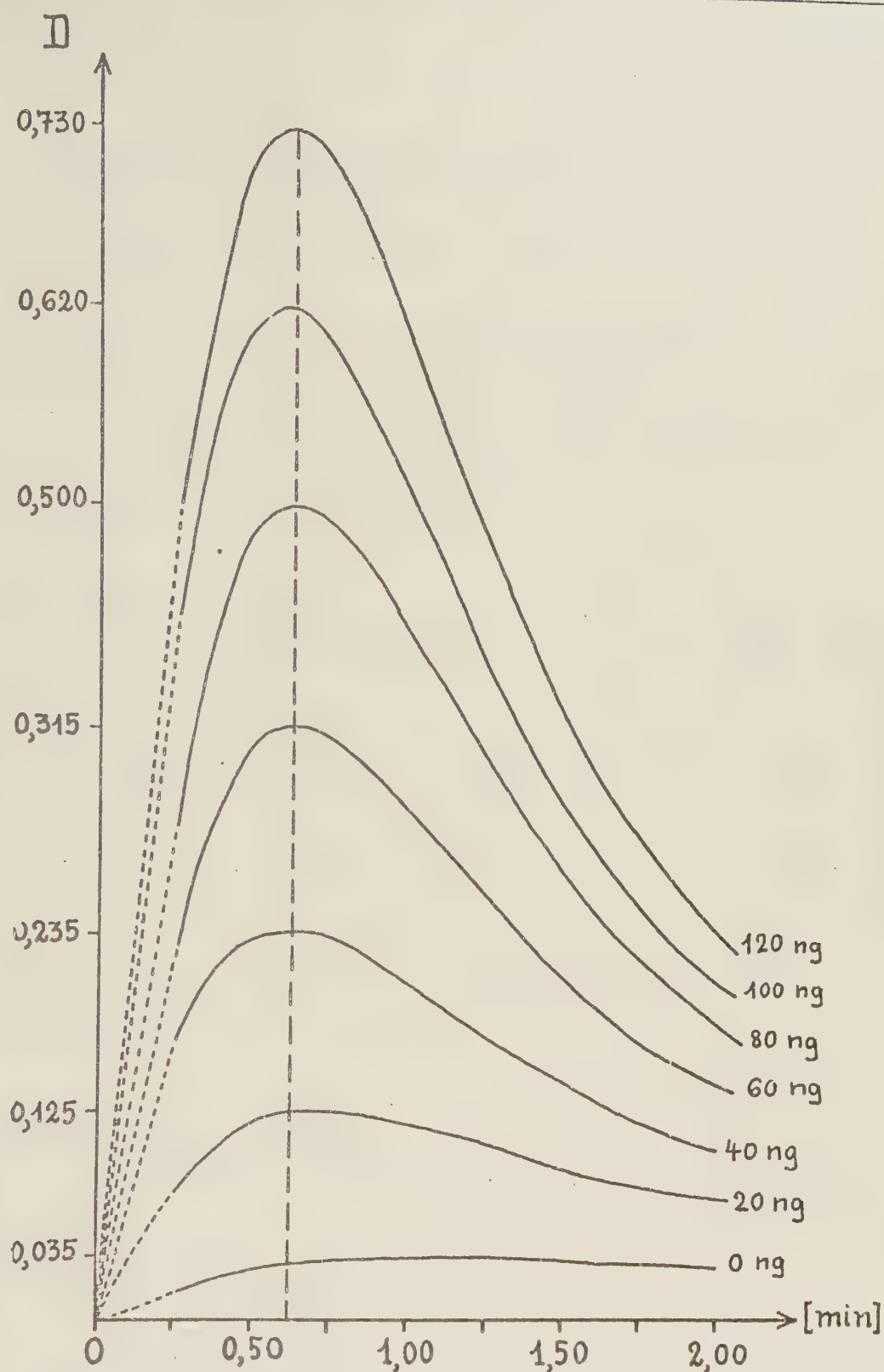


Fig. 3. Variation de la densité optique de la coloration bleue au cours du temps, en fonction de la concentration d'iode.

Les conditions de l'expérience sont celles de la Fig. 2. sauf pour la concentration d'iode qui varie de 0 à 120 ng/ml. Le temps correspondant à D_{max} (T_{max}) se situe entre 0,62 à 0,63 min. $\lambda = 600 \text{ nm}$

III. 3. 1. Influence du pH et choix du tampon

- En milieu fortement acide ($\text{pH} < 2$) la coloration bleue n'apparaît pas.
- En milieu neutre et alcalin, la tétrabase précipite.
- A un pH peu acide, la coloration bleue se forme.

Il s'agit de trouver un pH qui permette d'obtenir une coloration d'intensité maximum et de choisir un tampon qui se prête le mieux à une telle réaction.

Tampon acide acétique-acétate

(D'après WALPOLE J. Chem. Soc. 105 p. 2501, 1914)

Marge de pH : 3,6 à 5,6

On procède comme il est indiqué sous III. 3. en gardant la concentration d'iode constante et en faisant varier le pH du tampon.

On mesure la densité optique maximum par rapport à un blanc. La Fig. 4. indique un palier au voisinage du pH 5 où une petite variation de pH ne provoque pas de variation importante de D_{max} . Nous établissons donc une courbe d'étalonnage au pH 5,0 (Fig.5.).

Tampon acide citrique - PO_4HNa_2

(D'après Mc ILVAINE J. Biol. Chem. 49. P. 183, 1921)

Marge de pH 2,8 à 5,6

Mêmes conditions de travail que précédemment (Fig.4.).

On constate que pour la même concentration d'iode (100 ng/ml), la méthode est moins sensible qu'avec le tampon ac. acétique-acétate. On obtient un palier autour du pH 5,0 qui semble être encore un pH optimum. Nous établissons une courbe d'étalonnage à ce pH (Fig.5.).

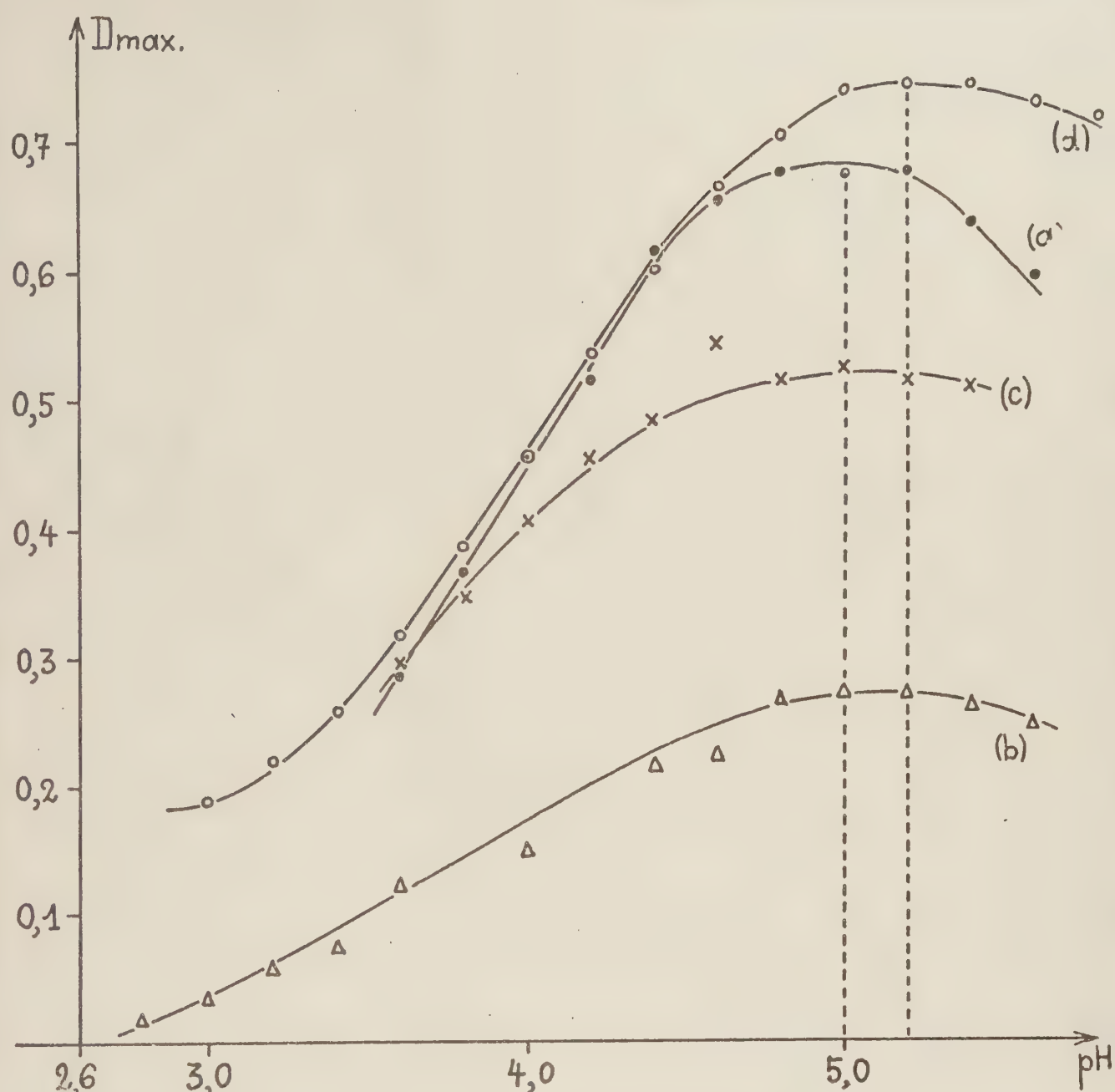


Fig. 4. Variation de D_{max} en fonction du pH.

Influence de la nature du tampon sur la sensibilité de D_{max}

- (a) tampon ac. acétique-acétate 0,2 M
- (b) tampon ac. citrique 0,1 M- PO_4HNa_2 0,2 M
- (c) tampon ac. succinique-NaOH 0,2 M
- (d) tampon ac. succinique-borax 0,05 M

Conditions expérimentales : 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4}$ M, 1 ml de la solution standard d'iode à 100 ng/ml, 1 ml de tampon de pH variable, 4 ml eau trid., 1 ml de chloramine T (vol. tot. = 8 ml). La densité optique (D) est mesurée par rapport à un blanc, à 600 nm.

Appareil Beckman DB-G, cuves en verre de 1 cm, papiers Metrohm.

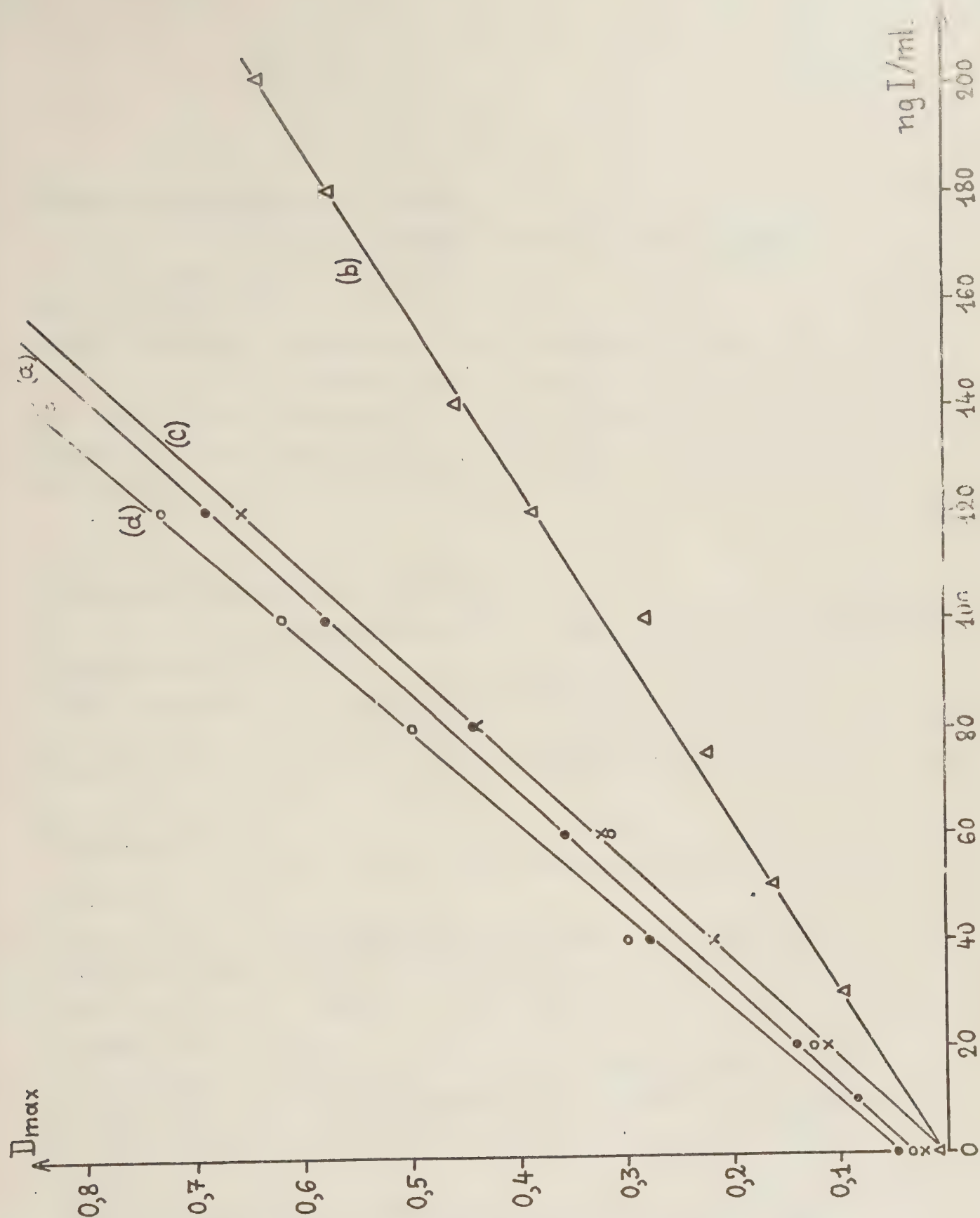


Fig. 5. Comparaison des courbes d'étalonnage de l'iode
dans les différents tampons

- (a) ac.acétique-acétate pH 5,0
- (b) ac.citrique PO_4HNa_2 pH 5,0
- (c) ac.succinique- NaOH pH 5,0
- (d) ac.succinique-borax pH 5,2

Les conditions d'expérience sont celles de la Fig.4.,
sauf pour les concentration d'iode qui varie de 0 a 200 ng/ml.

Tampon acide succinique - NaOH

(D'après GOMORI "Methods in Enzymology"
vol. I. N.York 1955 p. 138 3)

Marge de pH : 3,6 à 5,8

Mêmes conditions d'expérience que précédemment (Fig. 4.)

On constate que le palier est mieux marqué que dans les cas précédents et nous choisissons le pH 5,0 pour établir une courbe d'étalonnage (Fig. 5.). A ce pH une faible variation de pH n'influence pas la D_{max}.

Tampon acide succinique - borax

(D'après KOLTHOFF J. Biol. Chem. 63, p. 135, 1925)

Marge de pH : 3,0 à 5,8

Mêmes conditions de travail que précédemment (Fig. 4.).

Le pH optimum pour ce tampon est 5,2 et nous établissons une courbe d'étalonnage à ce pH (Fig. 5.).

Conclusion

Le choix de notre tampon dépend des facteurs suivants :

- Palier du pH aussi marqué que possible : en tampon ac.-acétique-acétate et ac.citrique- PO_4HNa_2 , le palier est moins étalé qu'en tampon ac.succinique-NaOH et ac.succinique-borax (Fig. 4.)
- Sensibilité : en comparant les différentes courbes d'étalonnage (Fig. 5.), nous constatons que la D_{max} pour le tampon ac.citrique- PO_4HNa_2 est moins sensible que pour les trois autres.
- T_{max} : désirant que le T_{max} soit aussi constant que possible quand on fait varier la concentration d'iode, nous avons établi le tableau I ou on peut comparer les différents T_{max} pour les différents tampons.

Tableau I. T_{max} pour les différentes concentrations d'iode (ng/ml) et les différents tampons

Tampon de pH 5,2 ou 5,0.	T _{max}		
	40 ng/ml	80 ng/ml	120 ng/ml
ac.acétique- acétate	1,02	1,03	0,95
ac.citrique- PO ₄ HNa ₂	0,87	0,87	0,87
ac.succinique- NaOH	0,82	0,74	0,78
ac.succinique- borax	0,62	0,63	0,62

L'ac.citrique-PO₄HNa₂ et l'ac.succinique-borax ont un T_{max} constant pour différentes concentrations d'iode. Mais nous avons vu qu'en milieu tampon ac.citrique-PO₄HNa₂ la sensibilité de D_{max} n'est pas suffisante pour le but que nous nous proposons. Le tampon ac.succinique-borax est donc plus approprié et c'est celui que nous utiliserons dans la suite de ce travail.

Remarque : En fait le pH réel de la solution à analyser est de 4,6 environ, quel que soit le tampon utilisé (de pH 5,0 ou 5,2).

III. 3. 2. Influence de la concentration de la Tétrabase

Pour faire varier la concentration de la tétrabase, nous avons préparé une solution concentrée de $3,15 \cdot 10^{-2} \text{M}$ dans l'ac.acétique 2N et nous avons prélevé des quantités connues que nous avons complété à 100 ml d'eau trid., tout en vérifiant le pH de la solution, celui-ci devant rester constant.

Dans la Fig. 6. nous observons l'apparition d'un palier à partir de $9,45 \cdot 10^{-4} \text{M}$ de tétrabase. Nous allons choisir la concentration de $12,6 \cdot 10^{-4} \text{M}$ pour nos essais ultérieurs.

Dans ces conditions, une faible variation de la concentration de la tétrabase n'apporte pas de grands changements dans les valeurs de $D_{\max}$.

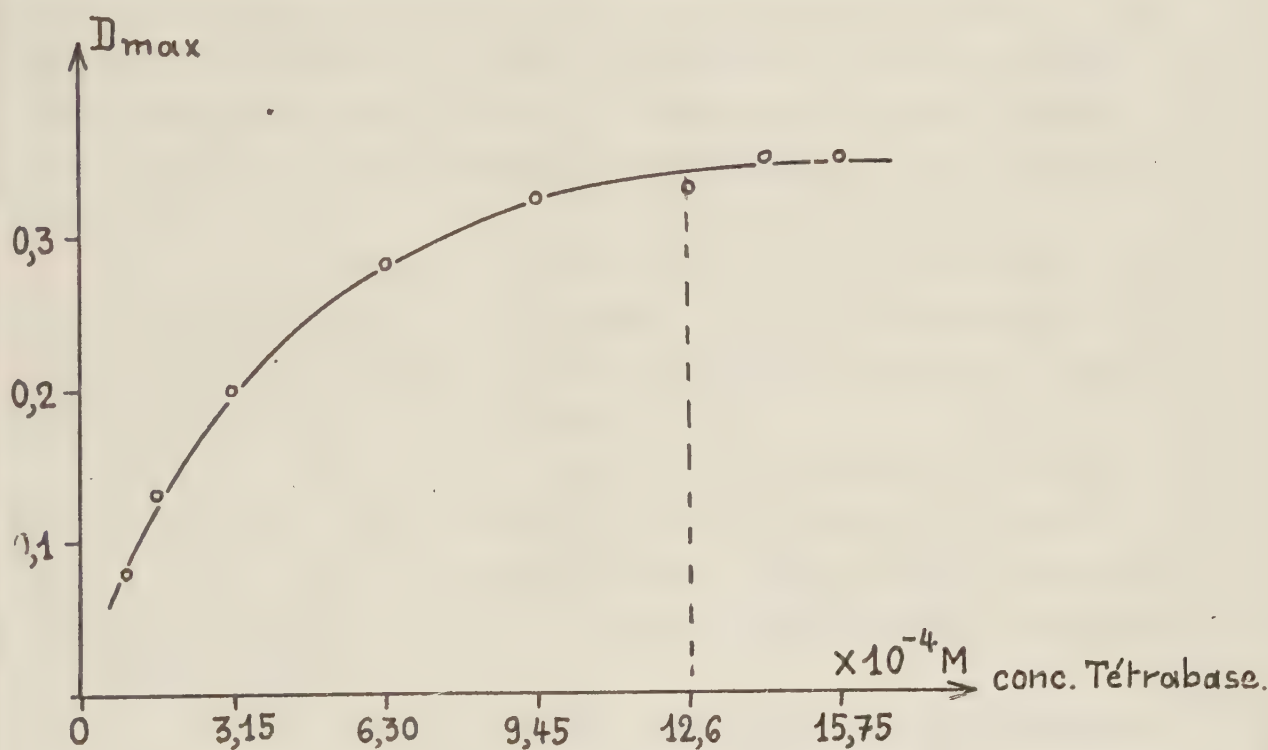


Fig. 6. Influence de la variation de la tétrabase sur la $D_{\max}$

Conditions de l'expérience : 1 ml de tampon ac-succinique-borax de pH 5,2, 1 ml de solution standard d'iode à 20 ng/ml, 1 ml de tétrabase de concentrations variables, 1 ml eau trid., 1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} M$ (vol. tot. 8ml).

$\lambda = 600 \text{ nm}$. Appareil Beckman DB-G, cuves en verre de 1 cm.

III. 3. 3. Influence de la concentration de la Chloramine T

La concentration de tous les réactifs sauf la chloramine T est maintenue constante. On fait varier la concentration de celle-ci de $0,04 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ à $24,48 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ à partir d'une solution de $8,16 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.

On place dans une éprouvette, 0,5 ml d' I^- (50 ng), 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, 1 ml de tampon ac. succinique-borax de pH 5,2, une concentration variable de la chloramine T et de l'eau trid. complétée à 8 ml. On suit au colorimètre la densité optique au cours du temps. Nous avons porté sur la Fig. 7. quelques-unes des courbes obtenues pour les différentes concentrations de la chloramine T.

La Fig. 7. montre qu'avec l'augmentation de la concentration de la chloramine T, la D_{max} s'accroît de plus en plus et le T_{max} se déplace dans l'échelle du temps vers les valeurs plus petites.

La Fig. 8. indique que la D_{max} est proportionnelle à la concentration de la chloramine T, jusqu'à $9,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. Pour des concentrations supérieures, un trouble apparaît dans la solution quelques minutes après la mesure colorimétrique.

La variation de T_{max} est aussi une fonction de la concentration de la chloramine T (Fig. 9.). Elle est assez faible au voisinage de $8,16 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ de chloramine T.

La courbe de variation de la D_{max} en fonction de la concentration de la chloramine T (Fig. 8.) ne présente pas de palier. Nous allons choisir la concentration de $8,16 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ où la sensibilité est bonne et où on est suffisamment éloigné de la concentration pour laquelle on obtient un trouble au sein de la solution.

Fig. 7.

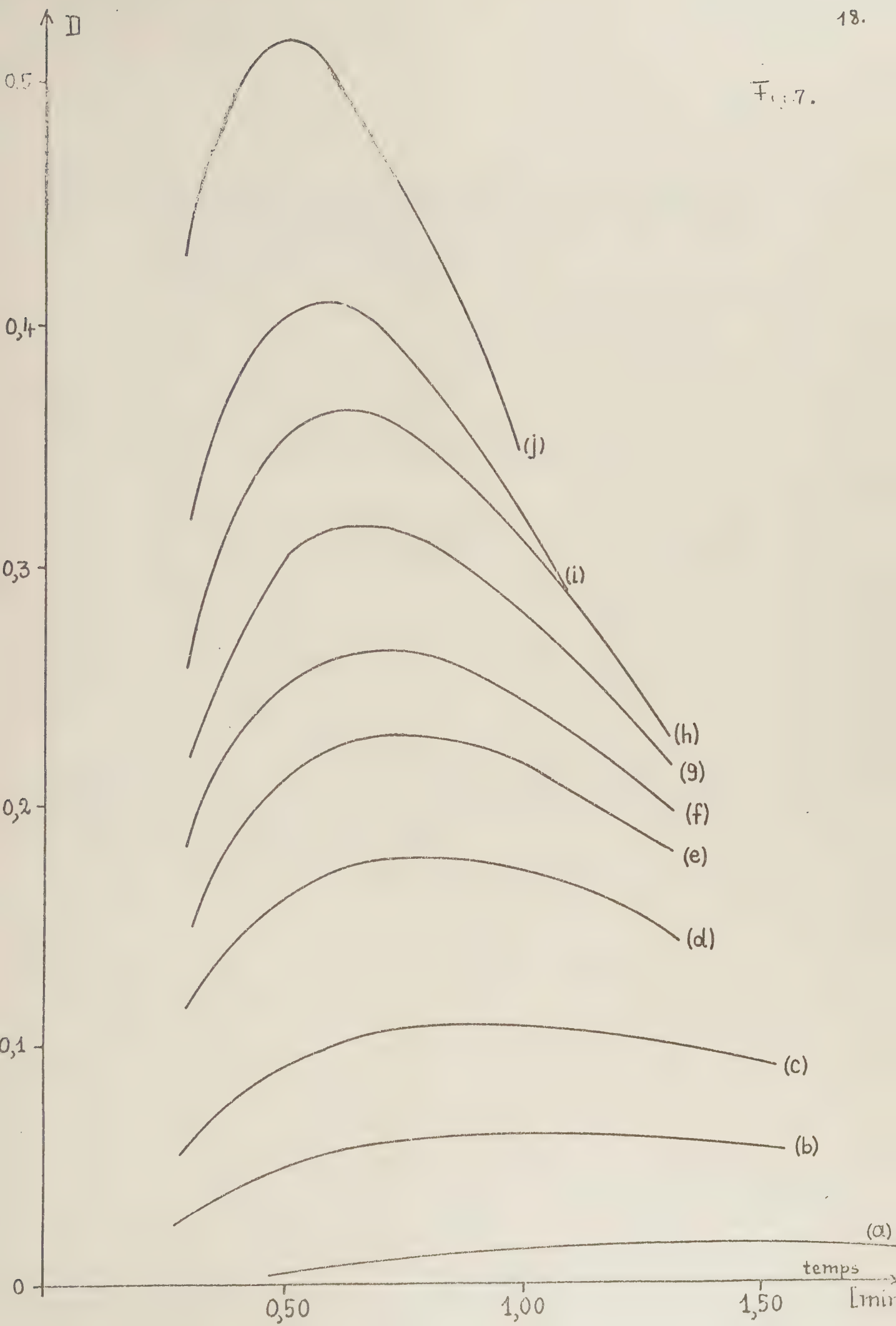


Fig. 7. Variation de la densité optique de la coloration bleue de la TbII, au cours du temps, pour différentes conc. de Chloramine T.

Conditions expérimentales : 1 ml de la sol. standard d'iode a 50 ng/ml, 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, 1 ml de tampon ac.succinique-borax de pH 5,2, 4ml d'eau trid., 1 ml d'une solution de chloramine T de concentrations variables (vol. tot. : 8 ml). La densité optique est mesurée par rapport à un blanc contenant tous les reactifs, sauf la chlramine T.

Pour les différentes courbes de la fig. les concentrations de la chloramine T sont les suivantes:

(a) $0,040 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	(f) $8,160 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
(b) $1,632 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	(g) $9,792 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
(c) $3,264 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	(h) $12,240 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
(d) $4,896 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	(i) $14,688 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
(e) $6,528 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	(j) $20,400 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Appareil Beckman DB-G : cuve colorimétrique 1 cm.

Remarque : afin de ne pas charger la Fig. 7. nous n'avons pas tracé les courbes des concentrations intermediaires à celles mentionnées plus haut.

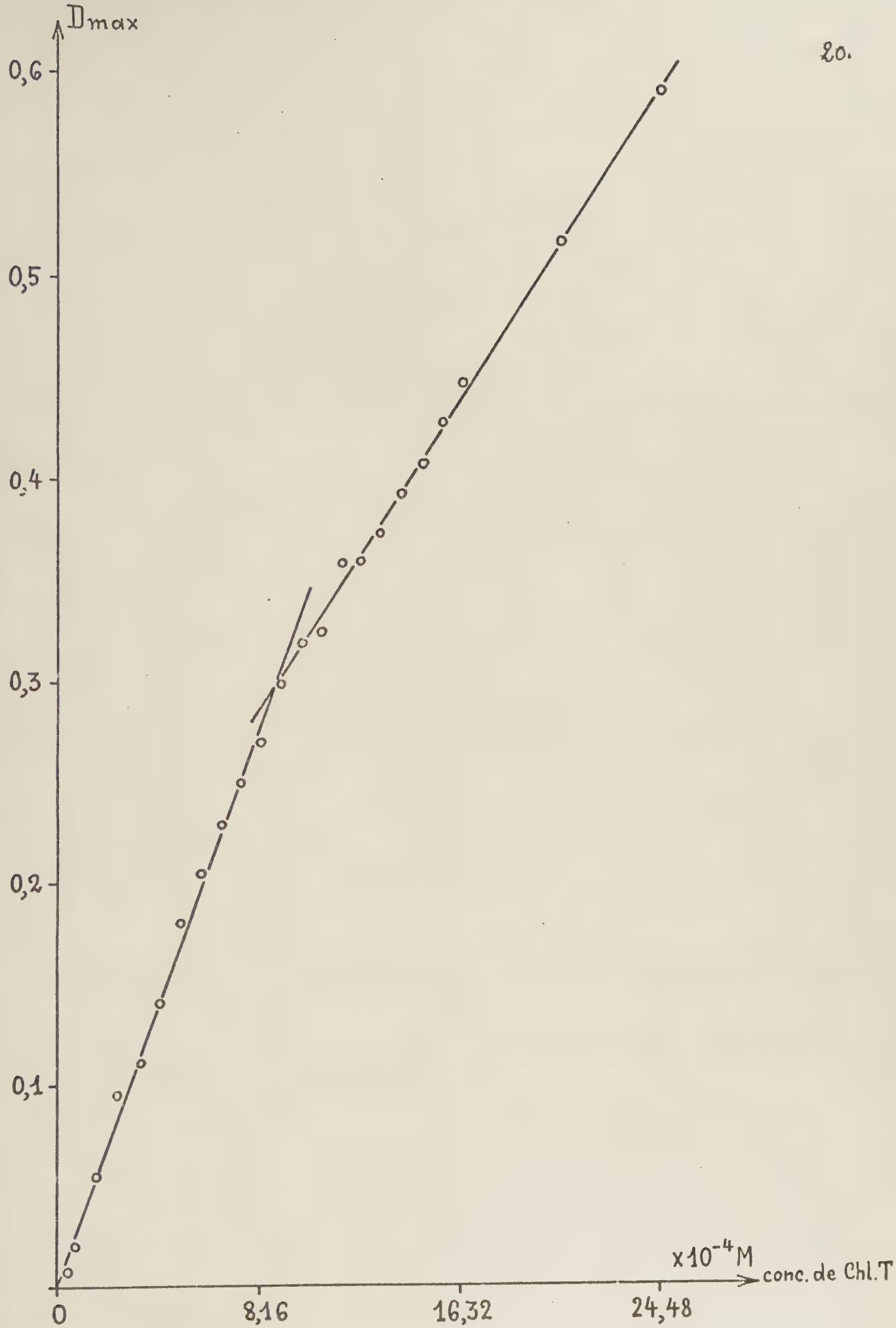


Fig. 8. Variation de $D_{\max}$ en fonction de la concentration de la chloramine T.

Fig. 9.

$\lambda = 600$ nm, la $D_{\max}$ est mesurée par rapport à un blanc contenant tous les réactifs sauf la chloramine T.

Le changement de la direction de la droite $D_{\max} = f$ (conc. chloramine T) peut s'expliquer par l'apparition d'un faible trouble, qui n'est visible à l'œil que quelques min. après la mesure colorimétrique.

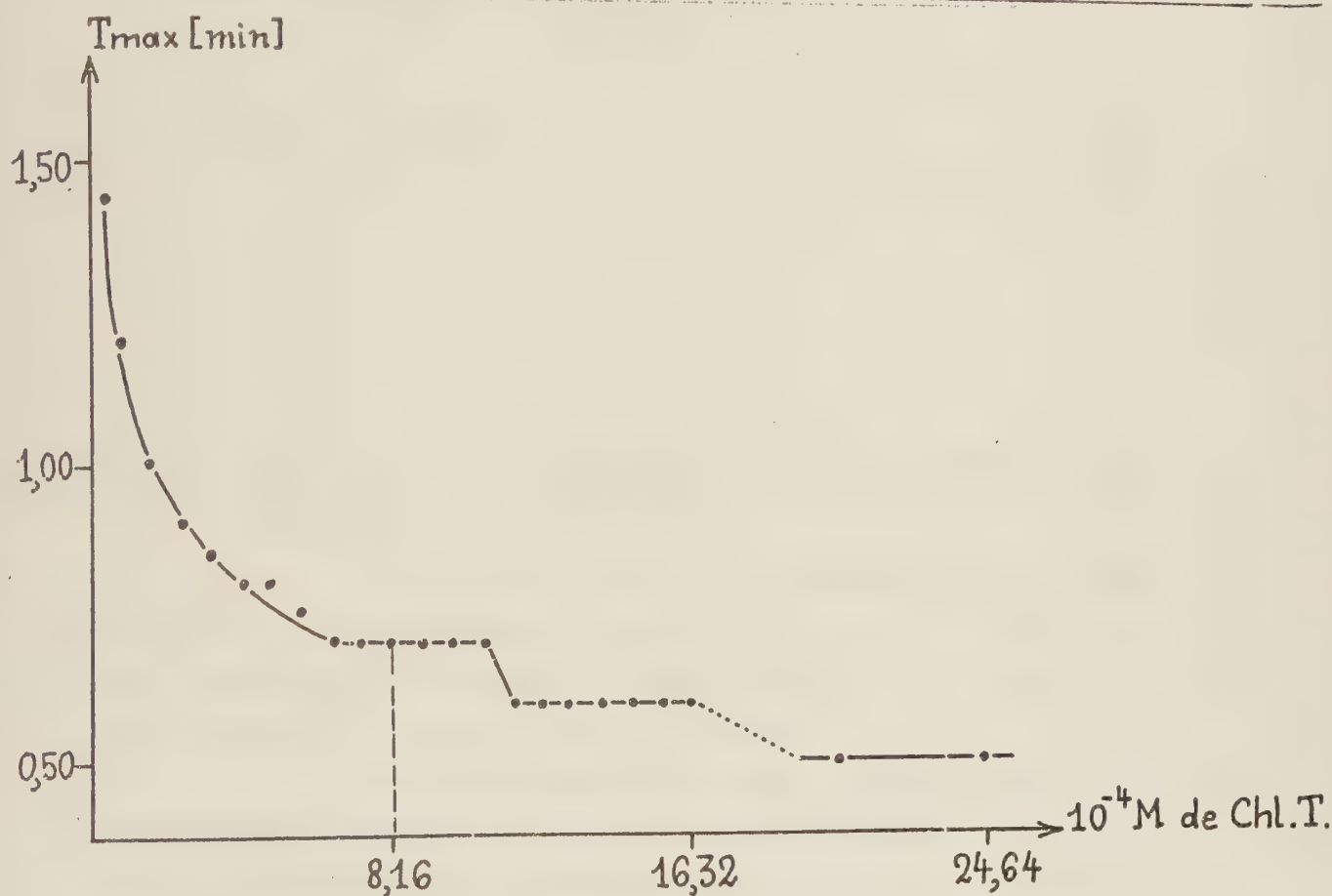


Fig. 9. Variation du $T_{\max}$ en fonction de la concentration de la chloramine T.

Au voisinage de la concentration $8,16 \cdot 10^{-4}$ M de chloramine T, le $T_{\max}$ présente un palier très marqué. Les autres paliers ont l'inconvénient de se trouver dans la région où un trouble apparaît au sein de la solution.

III. 3. 4. Conditions expérimentales définitives

L'étude des facteurs cités précédemment nous a permis de fixer les conditions expérimentales les meilleures pour la détermination colorimétrique, soit :

- tampon acide succinique-borax de pH 5,2 (0,05M) .	1 ml
- tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} \text{M}$	1 ml
- iodure standard	5 ml
- chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} \text{M}$	<u>1 ml</u>
volume total	8 ml

III. 4. Influence de la température sur la vitesse de la réaction

Nous avons étudié l'influence de la température sur la vitesse de la réaction (Fig. 10. et 11.), pour des solutions renfermant 100 ng d'iode/ml, les conditions expérimentales étant données ci-dessus. .

On observe que le Tmax augmente quand la température diminue et que la vitesse d'apparition de la coloration bleue, ainsi que sa disparition sont toutes deux commandées par la température. Etant donné les recherches ci-dessus, la température de 22°C . est celle qui présente le plus d'avantages pour un dosage colorimétrique d'iode.

Fig. 10.

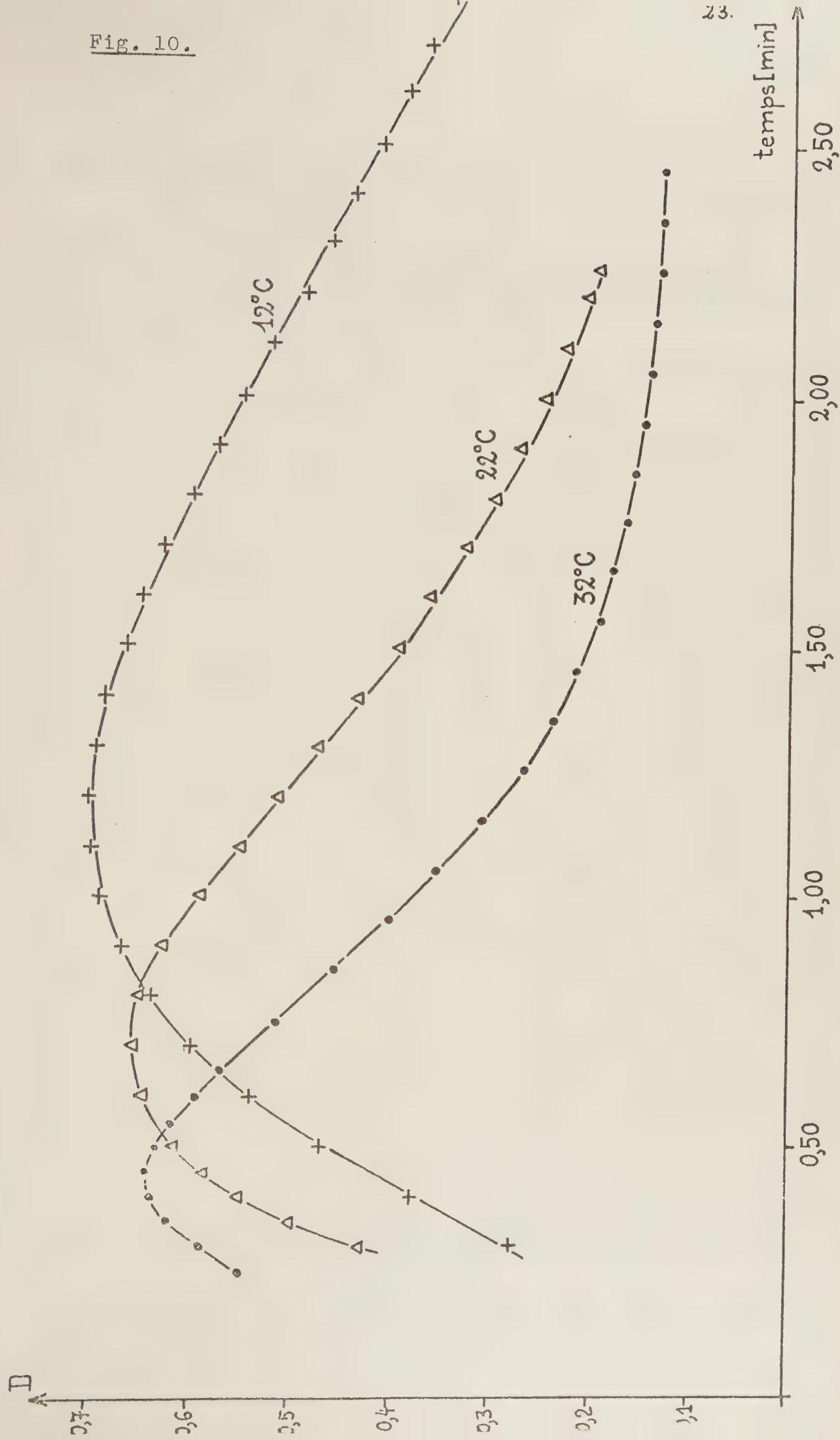


Fig. 10. Influence de la température sur la vitesse de la
de la réaction

Conditions expérimentales : 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} \text{M}$,
1 ml de la solution standard d'iode à 100 ng/ml, 1 ml de
tampon ac. succinique-borax de pH 5,2, 4 ml d'eau trid.,
1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} \text{M}$. Volume total : 8 ml.

Températures : 32° , 22° et 12° .

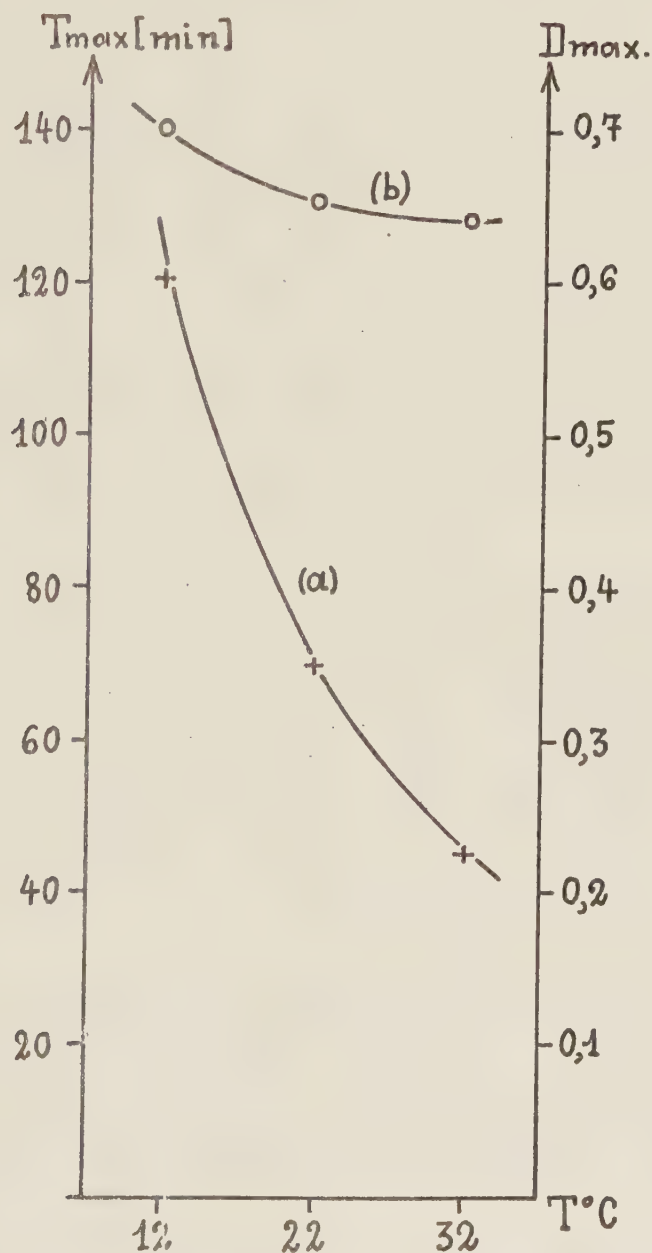


Fig. 11. Influence de la température sur la Dmax et le Tmax.

(a) $T_{\max} = f(\text{température})$

(b) $D_{\max} = f(\text{température})$

Nous constatons que le $T_{\max}$ varie considérablement quand la température change. Par contre la $D_{\max}$ ne présente pas de grandes variations sous l'influence de la température.

IV. Etude du composé jaune TbIII en vue d'un dosage d'iode

Nous avons établi les conditions optimales pour un dosage d'iode basé sur la formation du composé bleu TbII. Ces conditions restent valables pour le composé jaune TbIII.

Essai préliminaire

On introduit dans une éprouvette 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} M$, 1 ml de tampon ac. succinique-borax de pH 5,2, 1 ml de solution standard d'iode à 100 ng/ml, 4 ml d'eau trid., 1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} M$ (volume total: 8ml).

On mesure la variation de la densité optique à 460 nm. On obtient la courbe de la Fig. 12. où on constate que D augmente, passe par un point d'inflexion et atteint un palier.

Pour indiquer avec précision à quel temps a lieu le point d'inflexion, nous calculons $\frac{dD}{dt}$ de la courbe de la Fig. 12. Le temps correspondant au maximum de la courbe dérivée (Fig. 13.) est le même que celui correspondant au point d'inflexion de la courbe primitive.

Le point d'inflexion a un intérêt théorique que nous examinerons dans la deuxième partie de ce travail. Appelons :

- Dinfl : densité optique au point d'inflexion,
- Tinfl : temps correspondant à Dinfl,
- Dpalier : densité optique qui correspond au milieu du palier,
- Tpalier : temps correspondant au Dpalier.

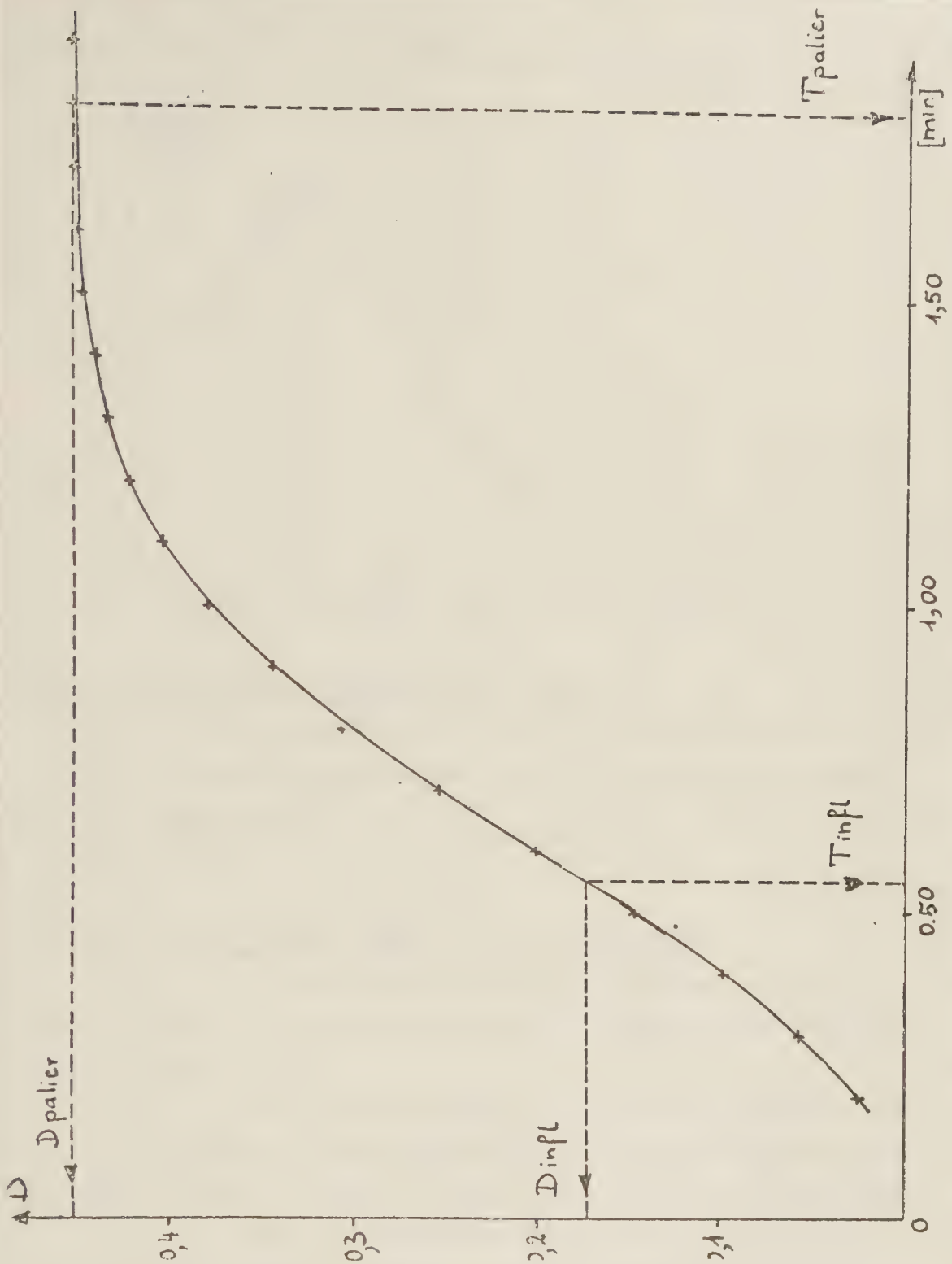


Fig. 12. Variation de la densité optique de la TbIII au cours du temps

Concentration de l'iode 100 ng/ml ; $\lambda = 460$ nm ;

Appareil Beckman, cuves en verre de 4 cm.

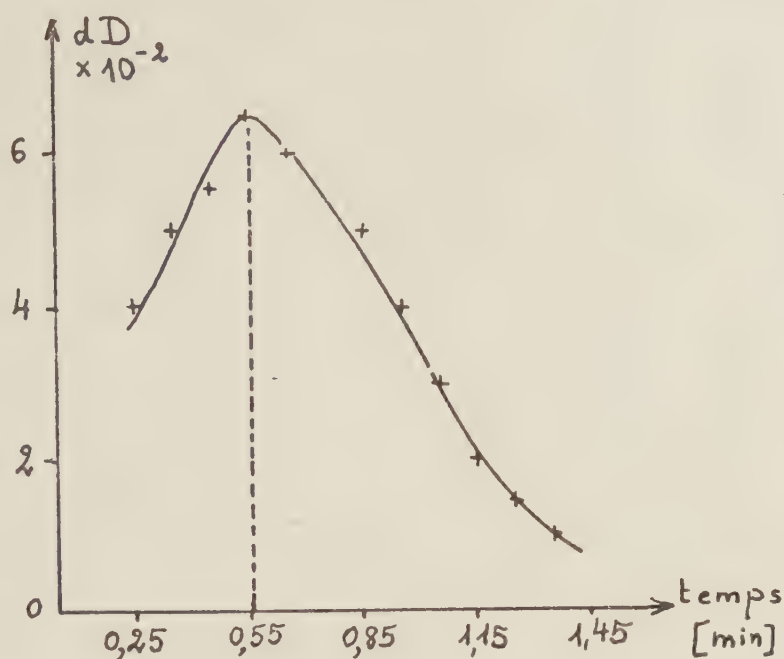


Fig. 13. La courbe dérivée de la Fig. 12

On constate que le max. de la courbe dérivée se trouve au même temps que le T_{infl} de la courbe primitive.

Relation entre D_{max} (TbII) et D_{infl} (TbIII)

Nous avons cherché la relation qui peut exister entre la D_{max} de la TbII et la D_{infl} de la TbIII (Fig. 14.).

Nous avons établi la courbe de la Fig. 14. où la variation de la densité optique est suivie au cours du temps, à 600 nm pour la TbII et à 460 nm pour la TbIII.

Nous constatons que la D_{max} (TbII) et la D_{infl} (TbIII) sont atteintes après un temps égal de 0,55 min ($\pm 0,05$) ; le T_{max} (TbII) et le T_{infl} (TbIII) se confondent donc. Ce phénomène est intéressant pour une étude cinétique qui fera l'objet des chapitres suivants.

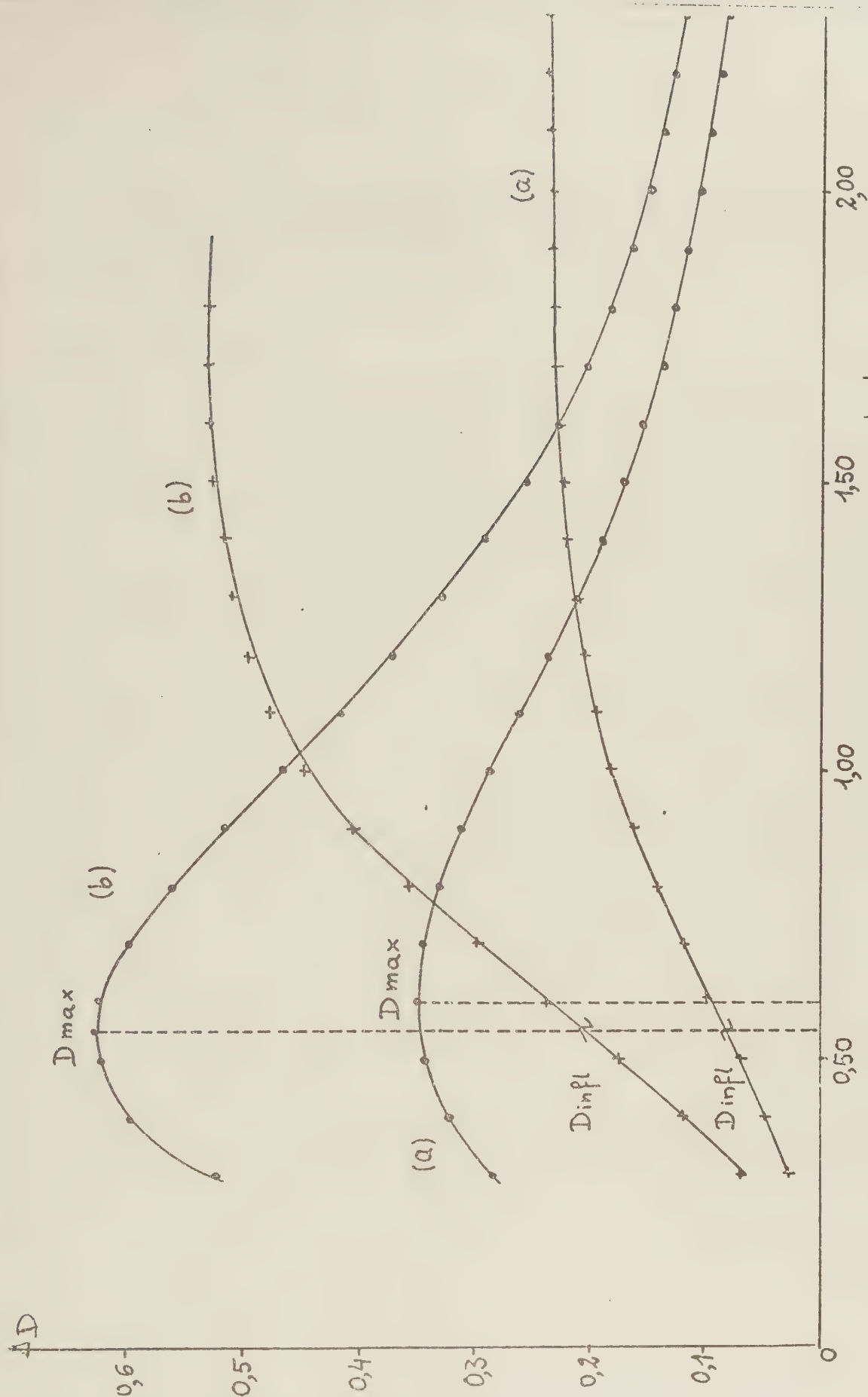


Fig. 14. Relation entre T_{max} et D_{max}

(a) 50 ng d'iode/ml (b) 100 ng d'iode/ml

(•) coloration bleue de TbII à 600 nm ;
cuve en verre de 1 cm.

(+) coloration jaune de TbIII à 460 nm ;
cuve en verre de 4 cm.

Appareil Beckman DB-G.

V. Méthode de dosage catalytique de l'iode basée sur la coloration bleue de la TbII ou sur la coloration jaune de la TbIII.

Mode opératoire

A 1 ml d'une solution aqueuse contenant de l'iode, nous ajoutons 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} \text{M}$, 1 ml de tampon ac. succinique-borax de pH 5,2, 4 ml d'eau trid. et 1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} \text{M}$ (volume total : 8 ml).

On mesure la densité optique à 600 nm, si le dosage est basé sur la coloration bleue de la TbII, à 460 nm s'il est basé sur la coloration jaune de la TbIII.

La teneur en iode de la solution inconnue est calculée au moyen d'une courbe d'étalonnage telle que la Fig. 15. ou la Fig. 16.

Etude de la précision et de la sensibilité de la méthode

Les conditions optimales pour le développement de la coloration bleue et jaune étant maintenant établies, il est nécessaire de connaître la précision de la méthode, sur des solutions aqueuses d'iode, soit 10, 50 et 100 ng/ml. Les conditions de l'expérience sont données dans le mode opératoire ; les valeurs sont portées dans le tableau II.

L'écart-type (S) est calculé pour une série de 10 dosages basés sur la mesure de D_{max} à 600 nm.

Tableau II. Calcul de (S) pour N = 10 et 95 % de probabilité

10 ng d'I/ml			50 ng d'I/ml			100 ng d'I/ml		
Dmax	$\bar{x} - x_i$ (10 ⁻³)	$(\bar{x} - x_i)^2$ (10 ⁻⁶)	Dmax	$\bar{x} - x_i$ (10 ⁻³)	$(\bar{x} - x_i)^2$ (10 ⁻⁶)	Dmax	$\bar{x} - x_i$ (10 ⁻³)	$(\bar{x} - x_i)^2$ (10 ⁻⁶)
0,097	+ 7	49	0,245	+ 3	9	0,520	+ 19	361
0,090	0	0	0,245	+ 3	9	0,510	+ 9	81
0,090	0	0	0,245	+ 3	9	0,500	- 1	1
0,090	0	0	0,245	+ 3	9	0,500	- 1	1
0,090	0	0	0,242	0	0	0,500	- 1	1
0,090	0	0	0,240	- 2	4	0,500	- 1	1
0,090	0	0	0,240	- 2	4	0,500	- 1	1
0,088	- 2	4	0,240	- 2	4	0,500	- 1	1
0,088	- 2	4	0,240	- 2	4	0,500	- 1	1
0,088	- 2	4	0,235	- 7	49	0,480	- 21	441
$\Sigma = 0,901$		61	2,417		101	5,010		890
$\bar{x} = 0,090$			0,242			0,501		

Les écarts-types calculés sont les suivants

10 ng d'Iode ± 0,67 ng soit ± 6,7%

50 ng d'Iode ± 1,5 ng soit ± 3,0%

100 ng d'Iode ± 4,5 ng soit ± 4,5%

Remarque : il apparaît donc que cette méthode présente une précision remarquable, étant données les conditions expérimentales et la faible quantité d'iode en présence. Evidemment nous sommes en présence de solutions pures d'iode. Il faut s'attendre à des résultats moins précis, lorsque l'analyse est faite sur des échantillons complexes.

Courbes d'étalonnage basées sur la coloration bleue de la TbII

Nous avons établi une courbe d'étalonnage en faisant varier la concentration d'iode de 1 à 100 ng/ml, dans un volume tot. de 8 ml. Chaque point de la courbe est la moyenne de 3 dosages. (Fig. 15.).

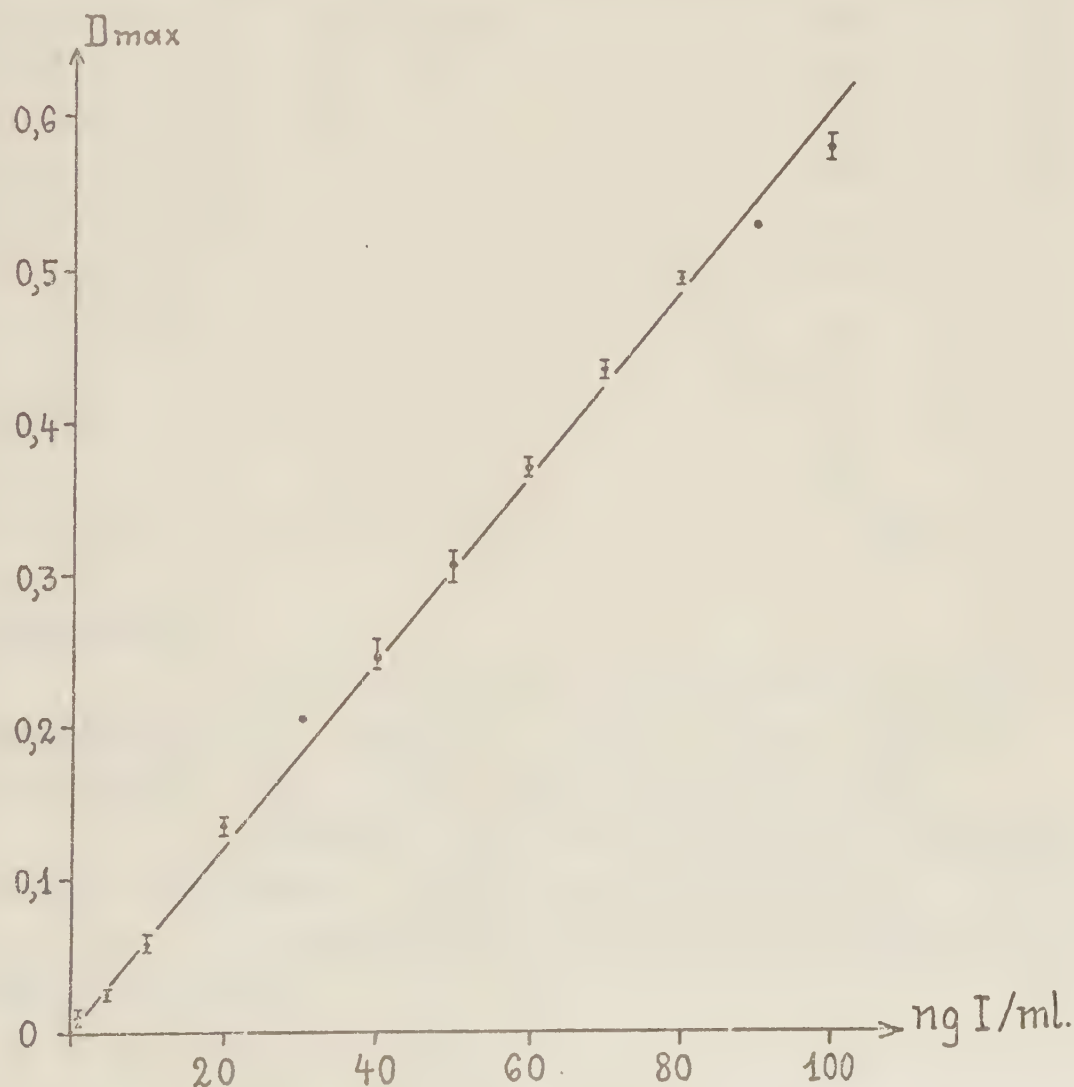


Fig. 15. Courbe d'étalonnage $D_{\max} = f(\text{conc. d'iode})$

$\lambda = 600 \text{ nm}$

Chaque point est la moyenne arithmétique de 3 dosages

Dosage des solutions aqueuses inconnues

Une série de solutions inconnues ne renfermant que de l'iodure de K, sont préparées au laboratoire et dosées par les étudiants. Les valeurs obtenues sont portées dans le tableau III.

Tableau III. Dosage de quelques solutions inconnues

solutions N°	valeurs trouvées ng I/ml	valeurs réelles ng I/ml
1	$98 \pm 4,5$	100
2	$51 \pm 1,5$	50
3	$22 \pm 1,2$	20
4	$36 \pm 1,5$	33
5	$11 \pm 0,7$	12
6	$39 \pm 1,4$	40
7	$88 \pm 4,0$	90
8	$26 \pm 1,2$	25
9	$73 \pm 3,0$	70
10	$57 \pm 2,0$	60

Conclusion

La sensibilité de dosage par cette méthode colorimétrique et catalytique est de 10 ng d'iode/8 ml (1,25 ng/ml) avec un écart-type de $\pm 0,67$ ng/8 ml.

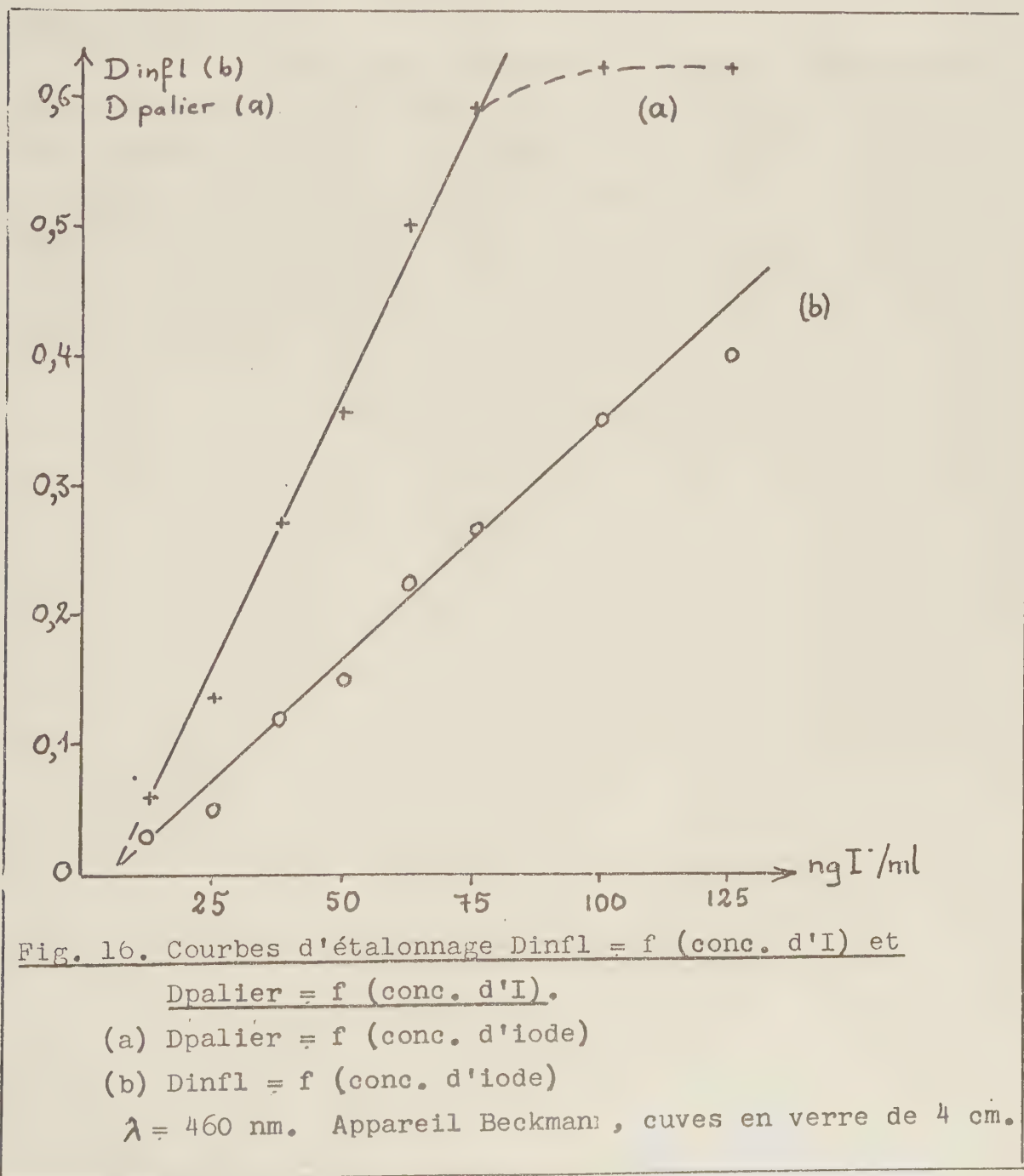
En outre nous avons dosé 1 ng d'iode/8 ml. L'écart-type obtenu a été de $\pm 0,25$ ($\pm 25\%$).

La limite de la sensibilité est de 0,1 ng/8 ml soit 12,5 pg/ml.

Courbes d'étalonnage basées sur la coloration jaune de la TbIII

Pour pouvoir doser les ng d'iode à l'aide de la coloration de la TbIII, nous allons établir deux courbes d'étalonnage $D_{infl} = f(\text{conc. d'iode})$ et $D_{palier} = f(\text{conc. d'iode})$, et les comparer.

Les conditions expérimentales sont décrites dans le mode opératoire à la p. 23. où la concentration d'iode varie de 0 à 100/ng/ml dans un volume total de 8 ml. (Fig. 16.)



Nous constatons que pour un dosage de l'ordre de ng, la Dinfl. n'est pas intéressante ; elle l'est par contre pour une étude théorique. Pour un dosage, la lecture de Dpalier est plus aisée et plus sensible que celle de Dinfl. Pour mesurer Dpalier, on peut attendre seulement la stabilisation de la densité optique.

Conclusion

Nous avons constaté que dans les mêmes conditions de dosage, la sensibilité de la coloration de la TbIII est inférieure à celle de la TbII. Pour augmenter cette sensibilité, nous pouvons travailler dans des cuves colorimétriques de 4 cm de longueur. De ce fait nous avons pu doser à 460 nm, 10 ng d'iode/8 ml avec une précision de 10 %, en tenant compte de Dpalier.

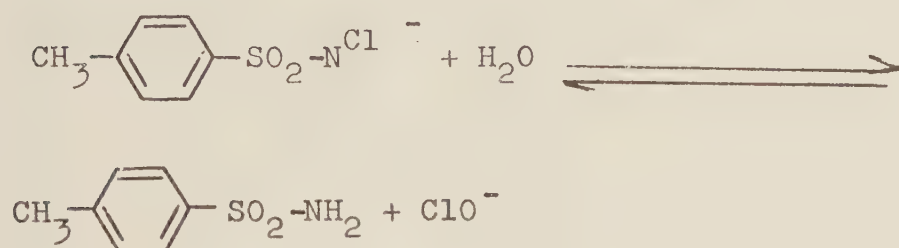
DEUXIEME PARTIE

"Essai d'explication du mécanisme des réactions
intervenant dans l'oxydo-réduction de la Tétrabase
par la Chloramine T, sous l'effet catalytique de l'iode".

I. Introduction

Nous allons étudier le mécanisme des réactions qui entrent en jeu dans la méthode de dosage de l'iode décrite dans la première partie de ce travail, en résumant les étapes principales.

I. 1. Hydrolyse de la Chloramine T



La chloramine T est un agent d'oxydation ($E_0 = 1,30 \text{ v. (25)}$), elle s'hydrolyse rapidement dans l'eau en libérant du ClO^- . La concentration aqueuse de la chloramine T pour nos dosages est d'environ 10^{-4} M . Le spectre d'absorption de cette solution est donné dans la Fig. 1..

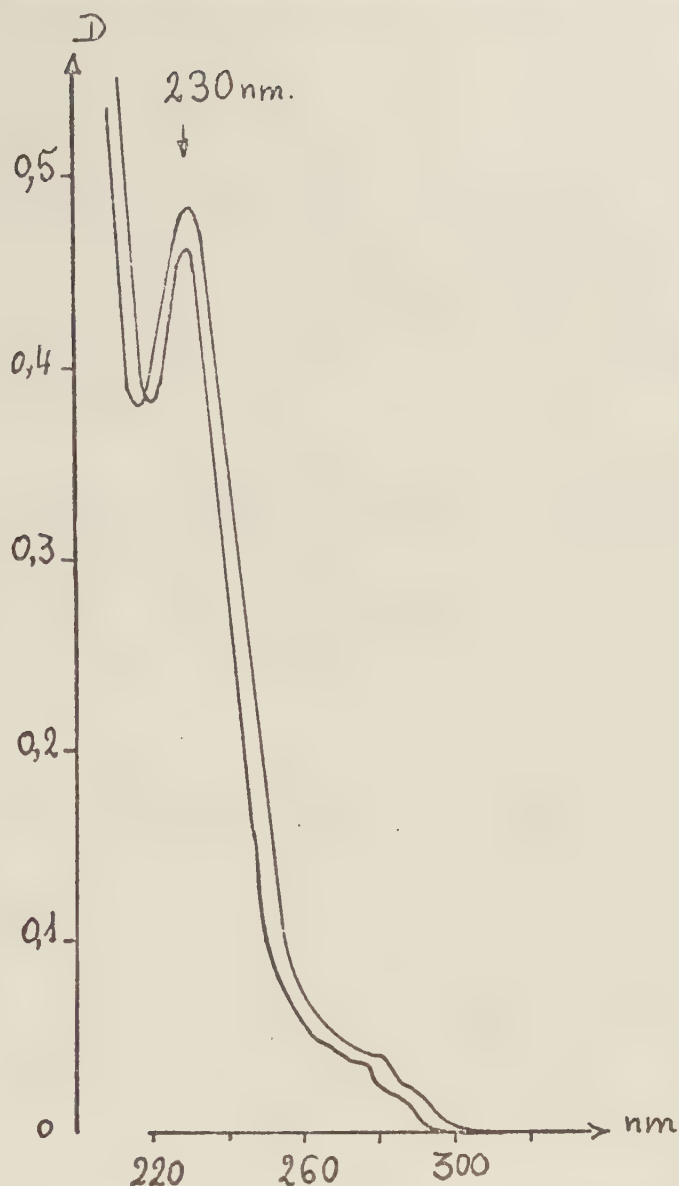


Fig.1. Spectre d'absorption de la chloramine T

Stabilité de la solution aqueuse de la chloramine T au cours du temps.

Conditions d'expérience : concentration de la chloramine T = 10^{-4} M. Cinq courbes sont tracées à l'intervalle de 20 min. Afin de ne pas charger la fig. nous indiquons seulement les deux courbes limites.

Max. d'absorption : 230 nm.

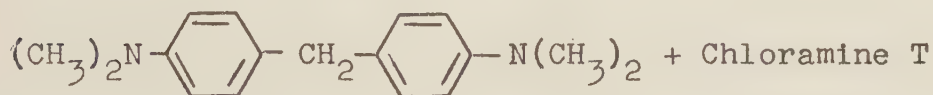
Appareil Beckman DB-G, cuves en quartz 1 cm.

Ce spectre tracé cinq fois à 20 min. d'intervalle, montre la stabilité relative de la solution.

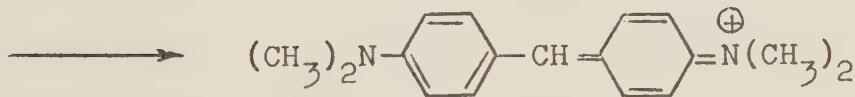
La chloramine T est en grand excès par rapport à l'iode (environ 1000 fois) et sa concentration reste constante au cours du dosage.

I. 2. Oxydation de la Tétrabase (TbI) par la Chloramine T

Cette réaction a lieu en milieu tamponné de pH 4,6 ; elle est très lente, la coloration bleue de la TbII n'apparaît que très faiblement.



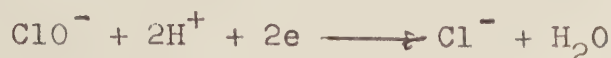
(TbI)



(TbII)

Par contre, en présence d'iode, cette réaction est beaucoup plus rapide, même pour des quantités de l'ordre de ng. Cet élément catalyse donc la réaction d'oxydation de la TbI en TbII.

L' I^- est oxydé par la ClO^- libéré par l'hydrolyse de la chloramine T, et I_0 qui en résulte oxyde la tétrabase selon les équations :



Le pouvoir oxydant de l'iode à l'état naissant dans les conditions de cette catalyse homogène est plus élevé que celui de ClO^- .

L'expérience montre que I^- ainsi oxydé en I_0 est beaucoup plus actif que I_2 . En effet, en présence de I_2 et en absence de Chloramine T, la réaction n'est perceptible que si la concentration de I_2 est de l'ordre de μg (au lieu de ng).

A la Fig. 2. donc, nous donnons deux courbes d'étalonnage établies avec I_2 et I^- .

La courbe D_{max} en fonction de μg d' I_2 est établie, en introduisant 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} M$, 1 ml de tampon ac. succinique-borax de pH 5,2, 1 ml de solution de I_2 de concentrations variables, 5 ml d'eau trid. ; volume total : 8 ml.

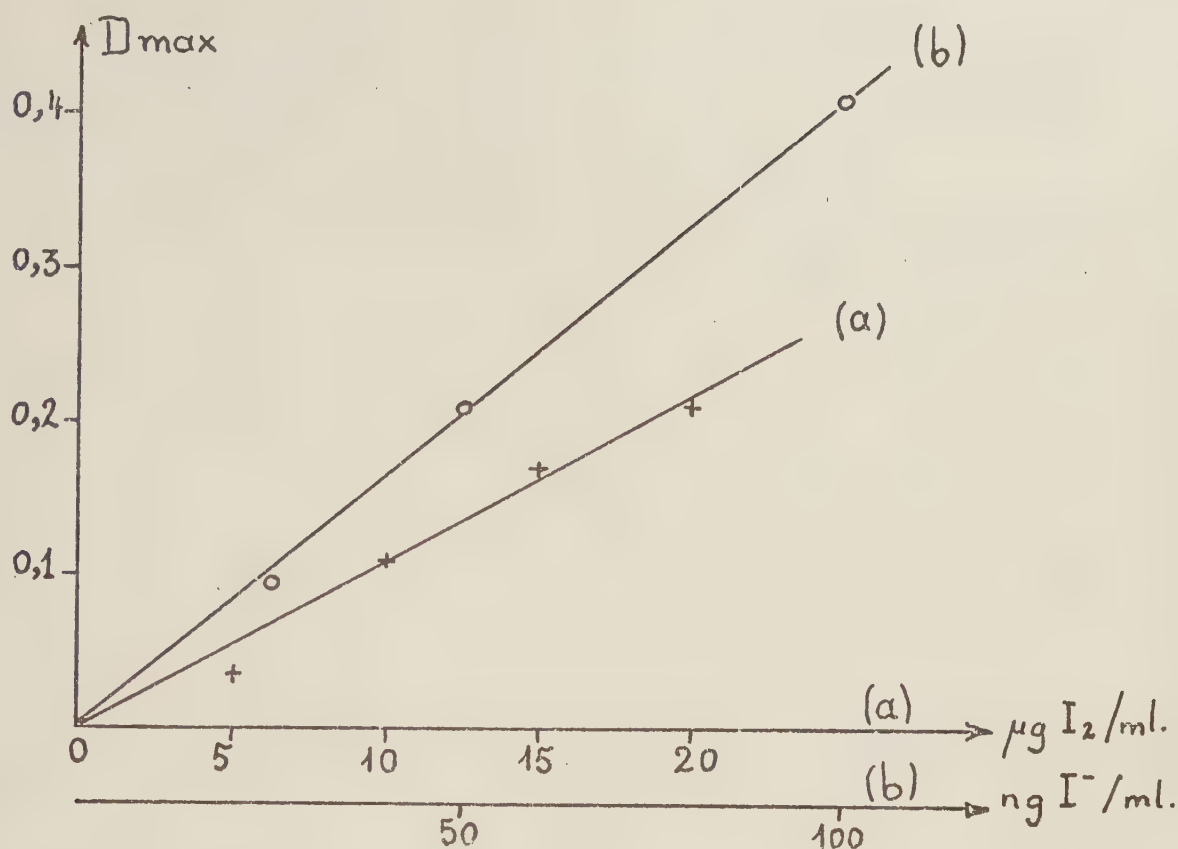


Fig.2. Courbes d'étalonnage comparative de $D_{max} = f(\text{conc. } I_2)$ et $D_{max} = f(\text{conc. } I^-)$.

(a) I_2 en absence de chloramine T. T_{max} : 0,30 à 0,40 min.

(b) I^- en présence de chloramine T. T_{max} ; 0,65 à 0,70 min.

On mesure le D_{max} en fonction de la concentration de I_2 (Fig. 2. courbe a). Le T_{max} est compris entre 0,30 à 0,40 min. Cette faible valeur est due certainement à la grande concentration d' I_2 . La courbe (b) de la Fig. 2. présente la variation de D_{max} en fonction de la concentration d' I^- en présence de chloramine T ; les conditions de l'expérience sont celles établies dans la première partie de ce travail (p.31). Le T_{max} a une valeur de 0,65 à 0,70 min. On constate que 50 ng d' I^- en présence de la chloramine T a la même D_{max} que 20 μg de I_2 en absence de celle-ci.

La même réaction a lieu dans les deux cas ; le spectre d'absorption établi en présence de I_2 est identique à celui établi en présence de I^- et chloramine T, et correspond au même composé bleu TbII. (fig. 3.).

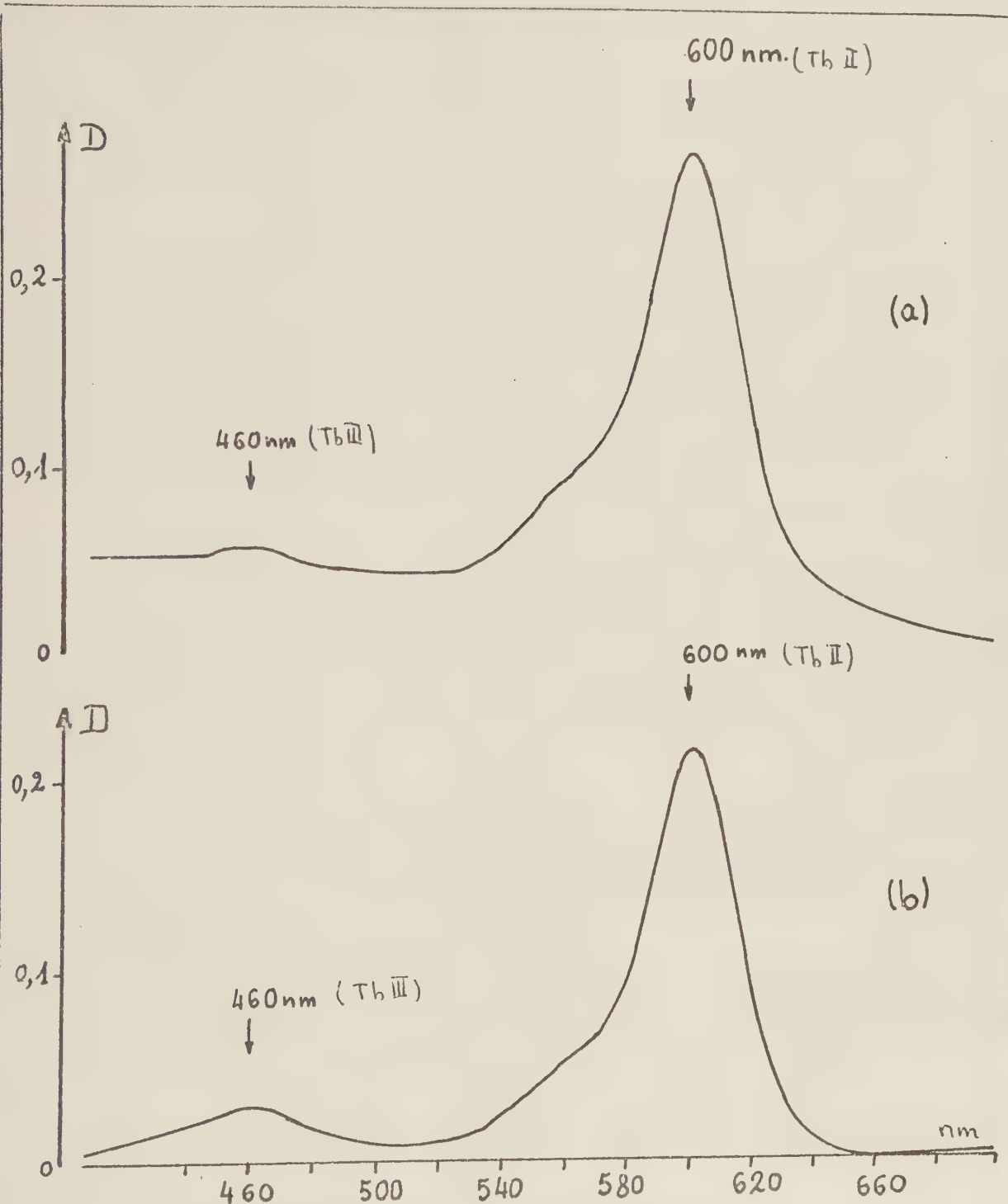


Fig. 3. Spectre d'absorption du composé TbII

(a) : composé TbII formé en présence de I_2 (max. d'absorp. 600 nm, $T_{max} \approx 0,30$ à $0,40$ min.).

(b) : composé TbII formé en présence de I^- et de chloramine T (max. d'absorption 600 nm, $T_{max} \approx 0,65$ à $0,70$ min.).

On remarque encore l'apparition du composé TbIII à 460 nm, dans les 2 spectres.

En présence d'I₂ seul, la limite de dosage est de 5 µg/8 ml ; à ce taux, l'iode joue le rôle d'oxydant. Par contre, en présence de I⁻ et de chloramine T, la limite de dosage est de 10 ng/8 ml ; à ce taux, l'iode joue le rôle de catalyseur d'oxydation.

Remarquons que si la concentration d'iode a une grande influence sur la densité optique max. de la TbII (coloration bleue), elle n'agit par contre que faiblement sur la Tmax, ainsi que le montre la Fig. 4., 5. et 6. Dmax est proportionnelle à la concentration d'iode, mais Tmax varie très peu et est même constant pour des concentrations comprises entre 20 et 100 ng/ml.

Nous avons aussi observé que l'iode ne peut plus être dosé si on utilise un hypochlorite au lieu de la chloramine T, car l'oxydation de la tétrabase par l'hypochlorite de Na ou de Ca est très rapide : la coloration bleue apparaît instantanément.

D'autres oxydants tels que CeIV et le permanganate, à des concentrations plus faibles encore que la chloramine T, font apparaître la coloration bleue de la TbII indépendamment de la présence d'iode.

Citons encore qu'une amine tertiaire telle que N-N-diméthyl-phénylènediamine, est oxydée par la chloramine T en présence ou en absence d'iode avec la même vitesse.

Donc l'effet catalytique d'iode ne se fait sentir que dans l'oxydation de la tétrabase par la chloramine T.

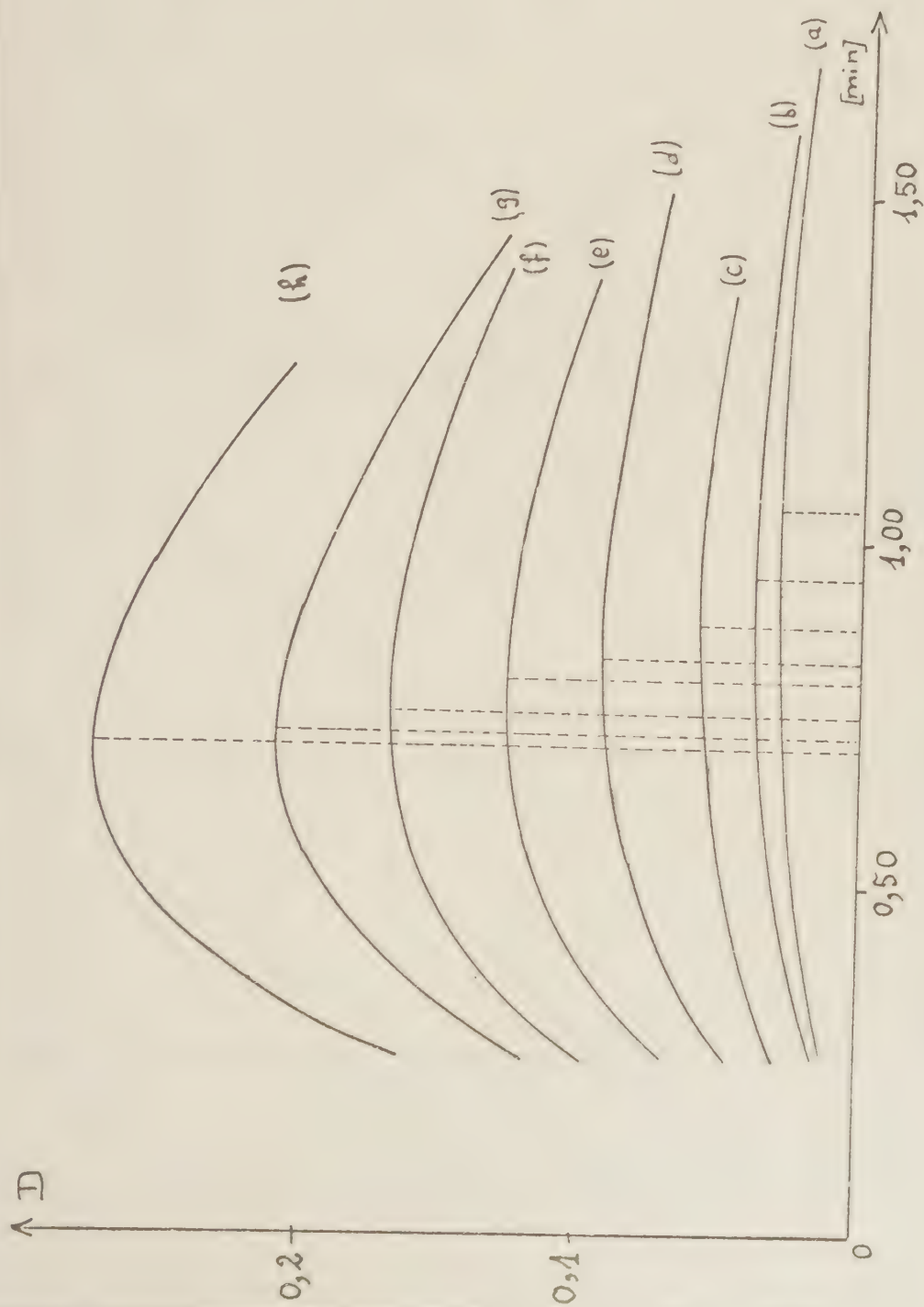


Fig. 4. Influence de la concentration d'iode sur la Dmax.

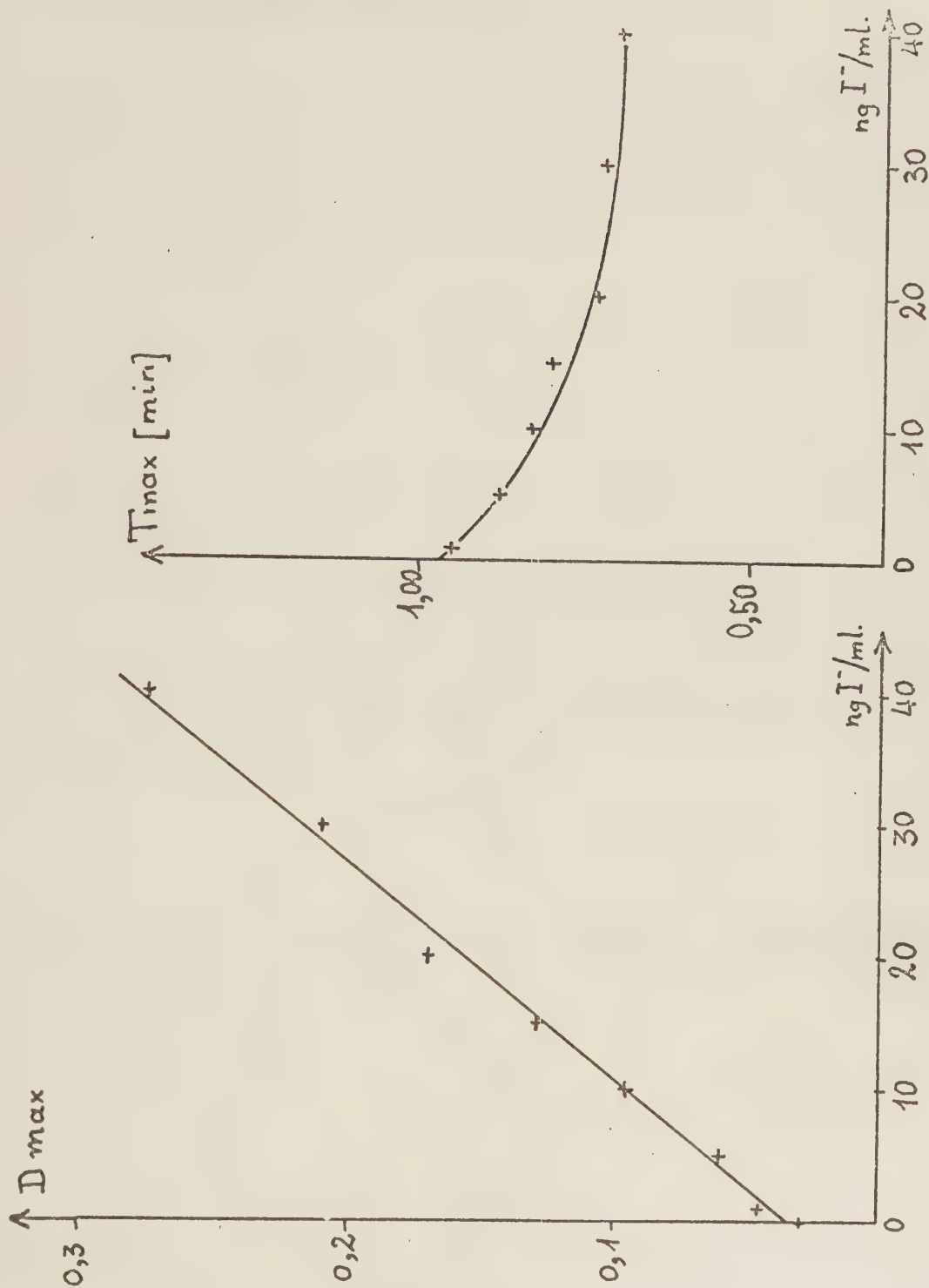


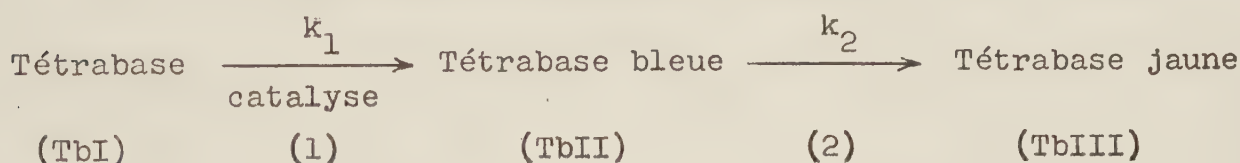
Fig. 5. $D_{max} = f(\text{conc. d'iode})$

Fig. 6. $T_{max} = f(\text{conc. d'iode})$

II. Etude cinétique de la réaction

II. 1. Réaction successive (ou consécutive)

La réaction d'oxydation ne s'arrête pas à la formation de la TbII ; en effet, la densité optique de cette dernière, après avoir passé par un maximum, diminue au cours du temps ; TbII est détruite au profit de TbIII (composé jaune).

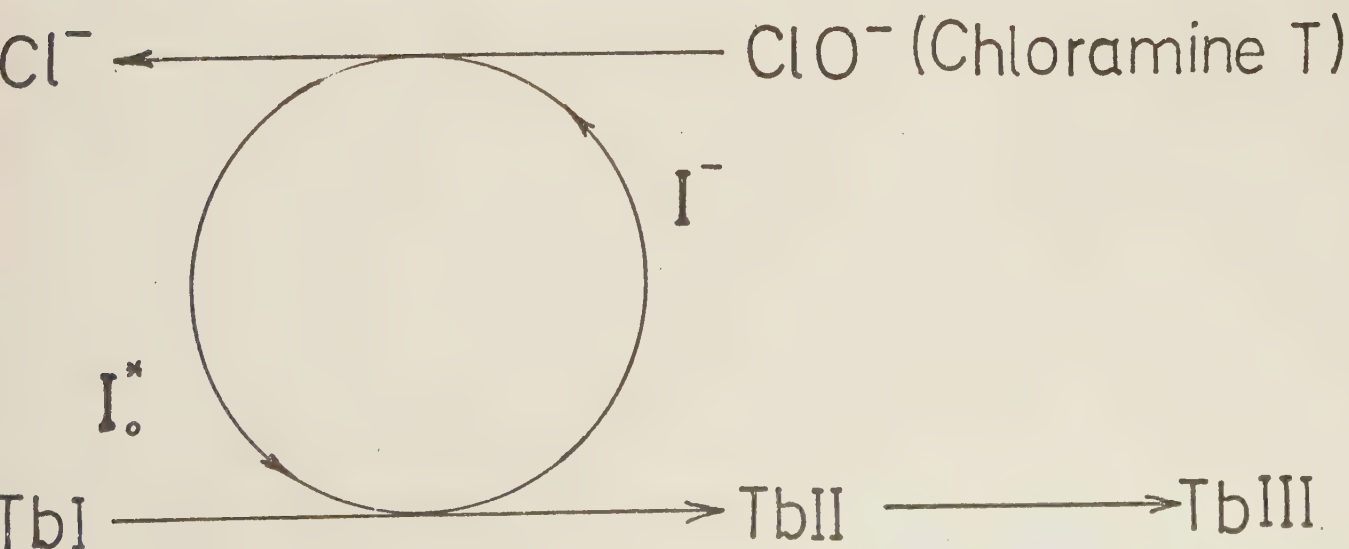


(On admet que dans le temps de l'analyse, ces réactions sont irréversibles).

Nous sommes en présence des réactions dites "successives".

La réaction (1) est catalysée par l'iode.

Le rôle catalytique du système I^-/I_2^* dans l'oxydo-réduction de la tétrabase-chloramine T peut être donné par le schéma suivant : (21)



II. 2. Ordre de la réaction $TbI \longrightarrow TbII$

Nous allons déterminer l'ordre de cette réaction en étudiant l'influence de la concentration de la tétrabase, celle du catalyseur (iode) sur la vitesse de la réaction d'une part, et en faisant le rapport des différents temps de réaction d'autre part (23).

- Influence de la concentration de la tétrabase sur la vitesse de la transformation de la TbI en $TbII$ et $TbIII$.

Pour pouvoir tracer la courbe de l'évolution des réactions successives $TbI \longrightarrow TbII \longrightarrow TbIII$, au cours du temps (Fig. 7.), nous avons dû modifier quelque peu les conditions précédemment établies : la concentration de la tétrabase passe de 10^{-4} à $10^{-5}M$, et l'iode a été augmenté (300 ng/ml). Quant à la concentration de la chloramine T elle est maintenue environ à $10^{-4}M$ et le tampon n'a pas été modifié. La tétrabase reste néanmoins en excès par rapport à l'iode (environ 100 fois).

Notre solution est donc composée de 1 ml de tampon ac. succinique-borax pH 5,2, 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-5}M$, 1 ml d'iode à 300 ng/ml, 4 ml d'eau trid., 1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4}M$, volume total ≈ 8 ml.

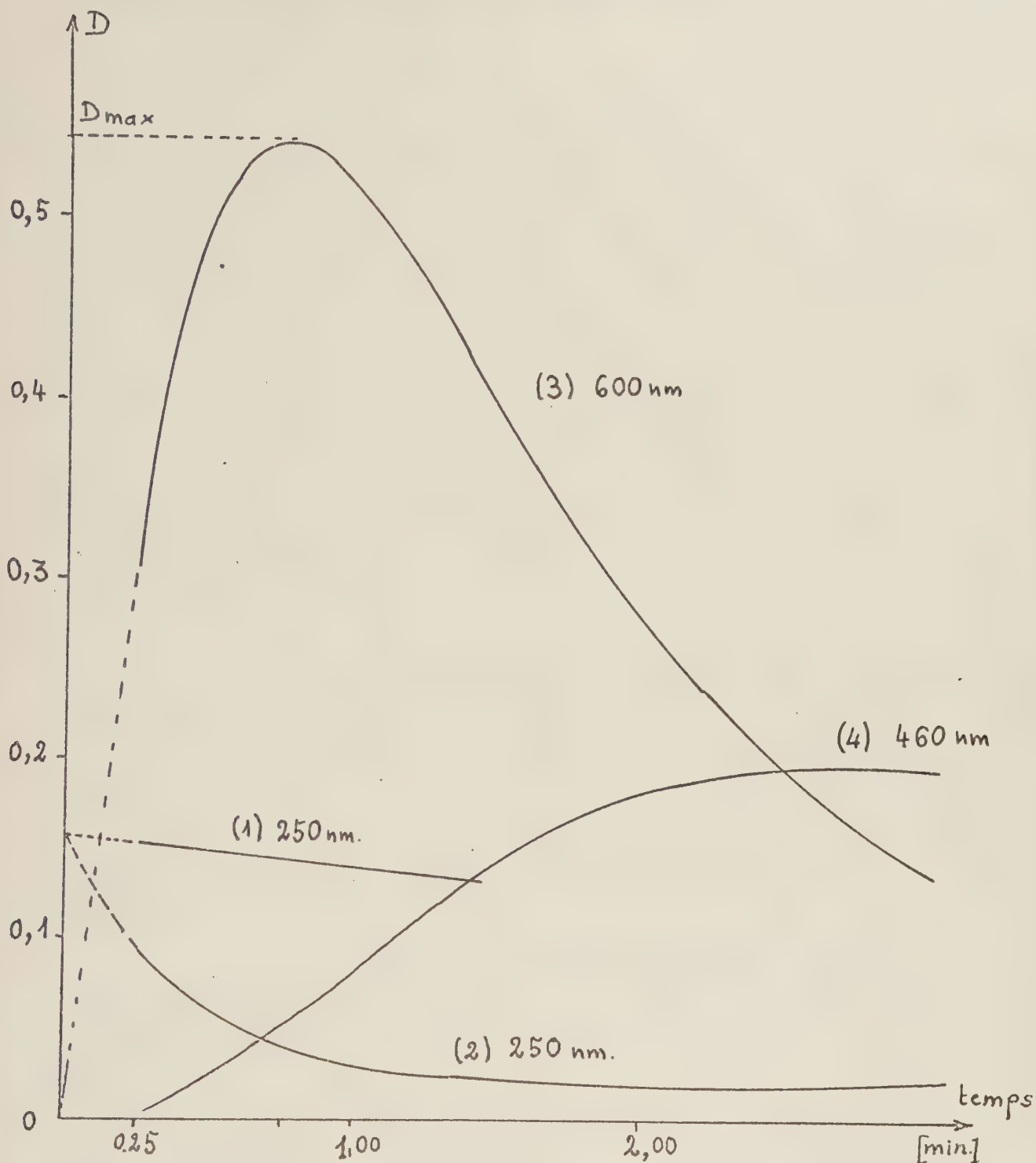


Fig. 7. Courbe de la transformation de la TbI en TbII et en TbIII au cours du temps.

- (1) Diminution de TbI au cours du temps en absence de catalyseur
- (2) Diminution de TbI au cours du temps
- (3) Variation de TbII au cours du temps
- (4) Formation de TbIII

Conc. $[TbI]_0 = 12,6 \cdot 10^{-5} M$

Conc. $I^- = 300 \text{ ng/ml}$

App. Beckman DB-G, cuves en quartz de 1 cm.

Nous avons tracé les courbes de la Fig. 7. à 3 longueurs d'onde différentes pour suivre séparément : la disparition de la TbI (250 nm, courbe 2), l'accumulation de la TbIII (460 nm, courbe 4), la formation et la destruction de la TbII (600 nm, courbe 3), en fonction du temps.

Il nous a été impossible d'enregistrer les différentes courbes dans l'intervalle de temps 0 à 0,25 min. à cause des manipulations à effectuer avant la mesure de D. Ainsi pour connaître la concentration initiale de TbI ($[TbI]_0$) au temps $t = 0$, nous avons fait un essai à blanc en absence d'iode (Fig. 7. courbe 1), et nous avons extrapolé de 0,25 à 0 min.

Les expériences faites avec différentes concentrations initiales de la tétrabase ($6,3 \cdot 10^{-5}M$, $12,6 \cdot 10^{-5}M$ et $18,9 \cdot 10^{-5}M$) montrent, pour une température donnée, que seule $D = f(\text{conc. tétrabase})$ change. La forme des courbes n'est pas modifiée (Fig. 8.) et la valeur de $T_{\max}$ du composé TbII reste inchangée, quelle que soit la concentration initiale de la tétrabase.

La Fig. 8. montre que la valeur de $T_{\max}$ pour les courbes (3), (3') et (3'') de la TbII est la même que la valeur du temps de réaction $t_{3/4}$ pour les courbes (2), (2') et (2'') de la TbI.

De même les temps de demi-réaction, $t_{1/2}$, sont sensiblement les mêmes pour les courbes (2), (2') et (2'').

De tout ceci on déduit que les temps de réaction sont indépendants de la concentration initiale de la TbI et que la réaction $TbI \rightarrow TbII$ est de l'ordre un.

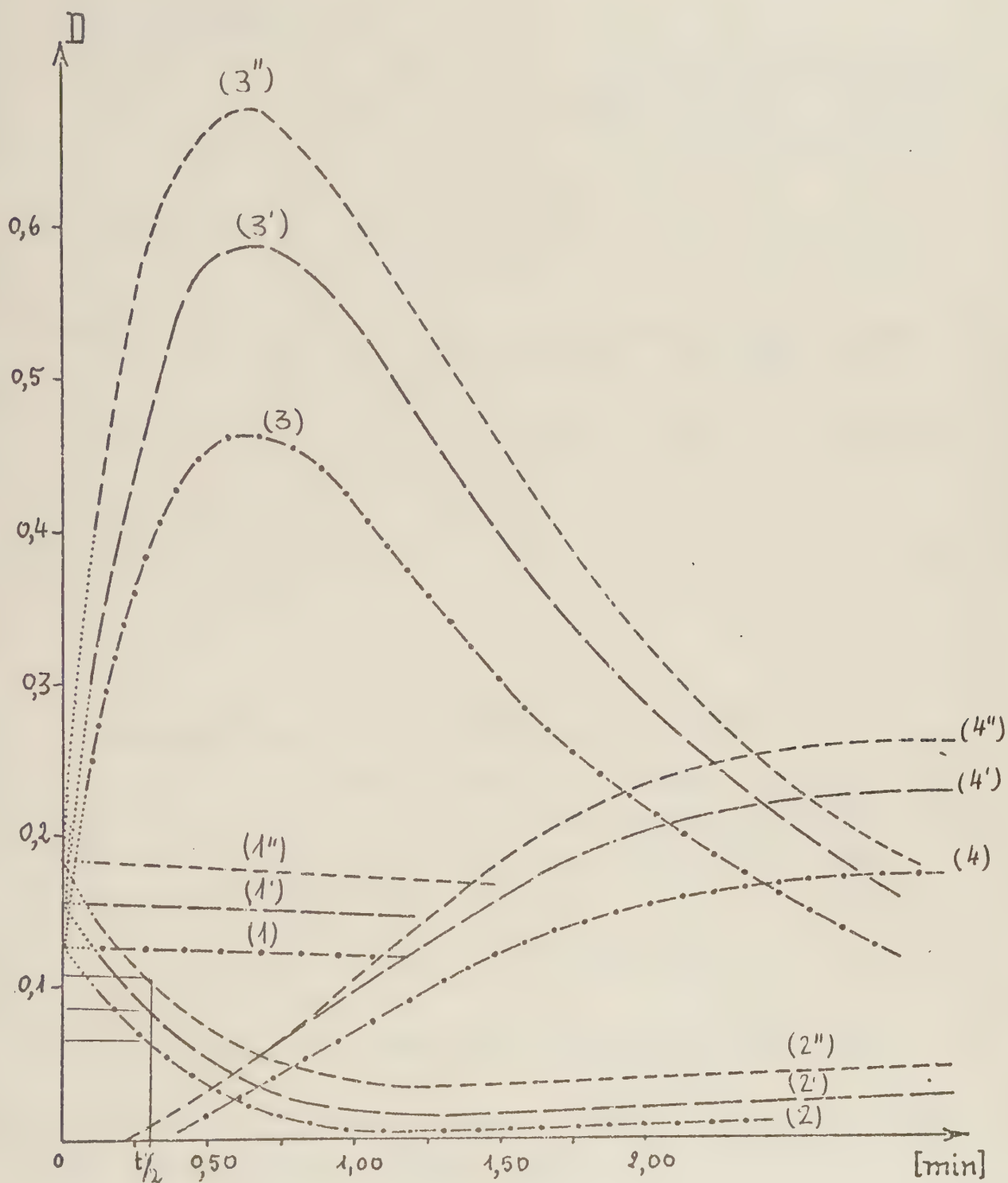


Fig. 3. Influence de la concentration initiale de la
tétrabase sur les réactions successives
 $\text{TbI} \longrightarrow \text{TbII} \longrightarrow \text{TbIII}$

Fig. 6. (suite).

- (1)(1')(1'') : conc. initiale de la tétrabase $[TbI]_0$, soit respectivement : $6,3 \cdot 10^{-5}M$, $12,6 \cdot 10^{-5}M$, $18,9 \cdot 10^{-5}M$. Ces solutions ne contiennent pas d'iode, et ont pour but de déterminer la valeur de la densité optique pour le temps $t = 0$, par extrapolation.
- (2)(2')(2'') : diminution de TbI au cours du temps pour les conc. respectives de $6,3 \cdot 10^{-5}M$, $12,6 \cdot 10^{-5}M$, $18,9 \cdot 10^{-5}M$.
- (3)(3')(3'') : augmentation et diminution de TbII au cours du temps, pour les conc. respectives de $6,3 \cdot 10^{-5}M$, $12,6 \cdot 10^{-5}M$, $18,9 \cdot 10^{-5}M$.
- (4)(4')(4'') : accumulation de TbIII au cours du temps pour les conc. respectives de $6,3 \cdot 10^{-5}M$, $12,6 \cdot 10^{-5}M$, $18,9 \cdot 10^{-5}M$.

Concentration en iode : 300 ng/ml.

- Rapport des temps de réaction de $TbI \rightarrow TbII$

On compare entre eux les temps au bout desquels différents pourcentages du réactif TbI a été consommé : temps de demi-réaction, de tiers de réaction, de quart de réaction etc.

Les valeurs des rapports $t_{\frac{1}{2}} / t_{\frac{1}{3}}$,

$t_{\frac{1}{2}} / t_{\frac{1}{4}}$, etc., dépendent de l'ordre de la réaction.

Les valeurs théoriques de celle-ci pour l'ordre 1, 2 et 3 sont données dans le tableau I. (23).

Tableau I. Rapport théorique des temps de Réaction (23)

Rapport des temps de Réaction	Ordre de la Réaction		
	1	2	3
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/4}}$	2,41	2	3,86
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/3}}$	1,71	3	2,40
$\frac{t_{1/3}}{t_{1/4}}$	1,41	1,50	1,61

Nous avons choisi 3 concentrations différentes de la tétrabase : $6,3 \cdot 10^{-5}M$, $12,6 \cdot 10^{-5}M$ et $18,9 \cdot 10^{-5}M$, et calculé à partir de la Fig. 8., pour les différents temps de réaction, le pourcent des particules de TbI présentes au cours de la réaction. Les valeurs sont portées dans les tableaux II et III.

Tableau II. Concentration des particules de Tbl présentes au cours de la réaction en fonction
des temps de réaction.

Temps de réaction. Fraction	N° de parti- cules de Tbl présentes	A	B	C
		$[TbI]_0 \approx 6,3 \cdot 10^{-5} M$ temps de réaction min	$[TbI]_0 \approx 12,6 \cdot 10^{-5} M$ temps de réaction min	$[TbI]_0 \approx 18,9 \cdot 10^{-5} M$ temps de réaction min
$t_{1/4}$	75	0,13	0,14	0,12
$t_{1/3}$	66,7	0,18	0,20	0,16
$t_{1/2}$	50	0,33	0,33	0,31
$t_{3/4}$	25	0,55	0,55	0,55

Tableau III. Rapport des temps de réaction et leur comparaison avec les valeurs théoriques

Rapports	A	B	C	$1/3(A+B+C)$	Valeur théorique de la réaction du 1er ordre
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/4}}$	2,52	2,36	2,58	2,48	2,41
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/3}}$	1,83	1,65	1,61	1,69	1,71
$\frac{t_{1/3}}{t_{1/4}}$	1,39	1,43	1,33	1,38	1,41

Nous constatons que les temps de réaction, pour une concentration donnée des particules TbI, sont à peu près identiques, quelle que soit la concentration initiale de la tétrabase ($[TbI]_0 = 6,3 \cdot 10^{-5}M$ ou $12,6 \cdot 10^{-5}M$ ou $18,9 \cdot 10^{-5}M$).

Les temps de réaction étant indépendants de la concentration initiale du réactif (TbI), et le rapport de ces temps ($\frac{t_{1/2}}{t_{1/4}}$ etc.) très proche des valeurs théoriques

du tableau I, nous pouvons conclure que notre réaction est de premier ordre.

- Influence de la concentration du catalyseur sur la vitesse des réactions $TbI \longrightarrow TbII \longrightarrow TbIII$

Gardant constantes la concentration de la tétrabase ($18,9 \cdot 10^{-5} M$) et celle de la chloramine T ($8,16 \cdot 10^{-4} M$), le tampon étant toujours l'ac. succinique-borax de pH 5,2, nous allons étudier la réaction pour 2 concentrations d'iode : 200 et 400 ng/ml pour un volume total de 8 ml.

Nous constatons (Fig. 9.), comme dans le cas précédent, que seule la $D = f$ (conc. d'iode) change et que l'allure des courbes reste la même. Le T_{max} est indépendant de la concentration du catalyseur.

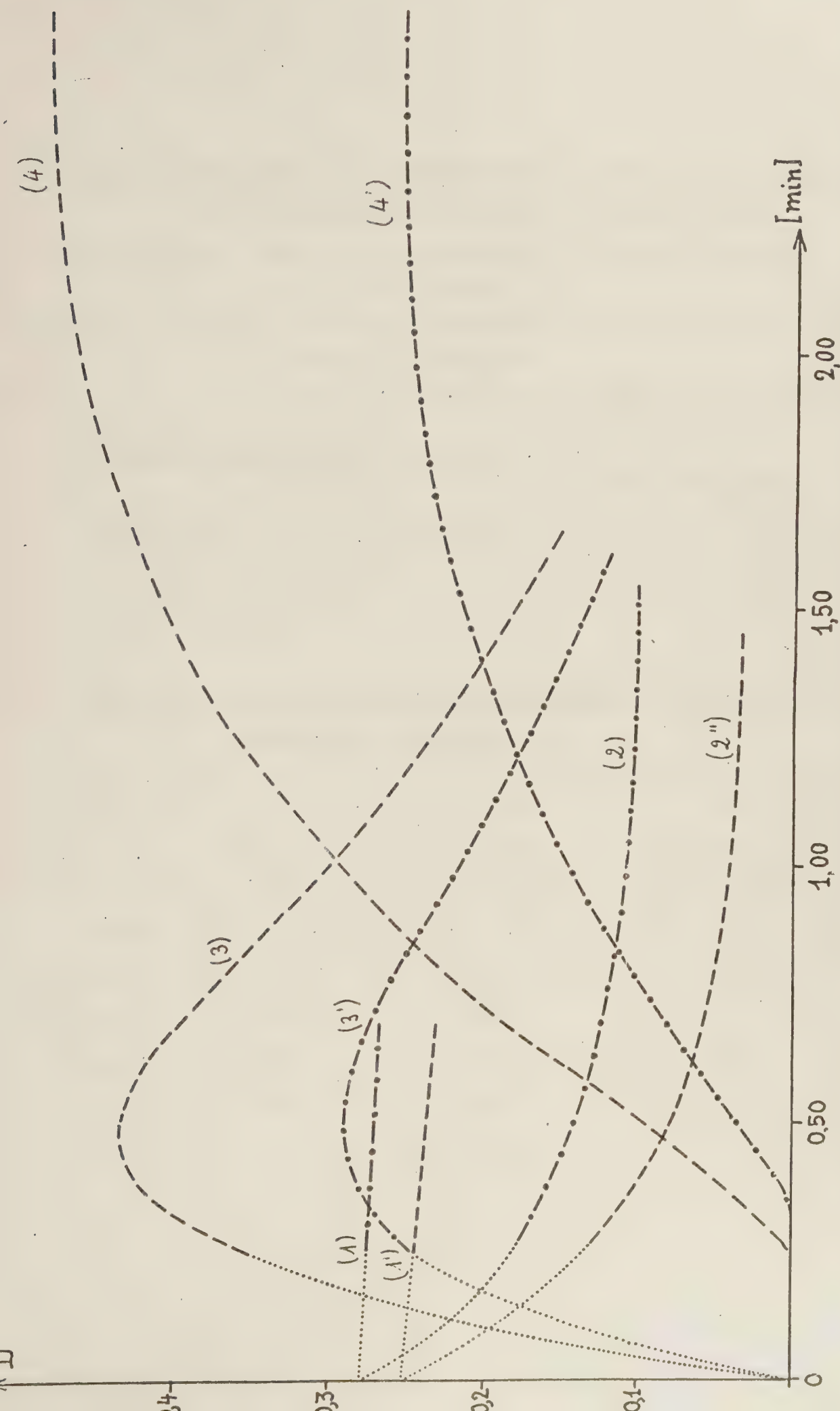


Fig.9. Influence de la concentration d'iode sur la vitesse des réactions successives

TbI $\rightarrow$ TbII $\rightarrow$ TbIII

Fig. 9. Influence de la concentration d'iode sur la vitesse des réactions successives $TbI \rightarrow TbII \rightarrow TbIII$

(1)(2)(3)(4) réactions successives $TbI \rightarrow TbII \rightarrow TbIII$
conc. I^- 400 ng/ml

(1')(2')(3')(4') réactions successives : $TbI \rightarrow TbII \rightarrow TbIII$
conc. I^- 200 ng/ml

conc. initiale de tétrabase $[TbI]_0 = 18,9 \cdot 10^{-5} M$

- Rapport des temps de réaction

Nous allons calculer au moyen des valeurs données par la Fig. 9., les temps de réaction pour les différentes concentrations (en %) des particules de TbI présentes ; la concentration d'iode est de 200 et 400 ng/ml (tableaux IV et V).

Tableau IV. Temps de réaction correspondant au % des particules TbI présentes

temps de réaction. Fraction	% de particules de TbI présentes	D	E
		200 ngI/ml	400 ngI/ml
		temps de réaction [min]	temps de réaction [min]
$t_{1/4}$	75	0,09	0,11
$t_{1/3}$	66,7	0,14	0,15
$t_{1/2}$	50	0,24	0,26
$t_{3/4}$	25	0,50	0,45

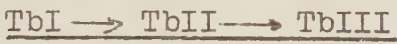
Tableau V. Rapport des temps de réaction et leur comparaison avec les valeurs théoriques

Rapport	D	E	valeurs moyennes $1/2(D + E)$	valeurs théoriques de la réaction du 1er ordre
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/4}}$	2,67	2,36	2,52	2,41
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/3}}$	1,71	1,73	1,72	1,71
$\frac{t_{1/3}}{t_{1/4}}$	1,56	1,37	1,47	1,41

Nous constatons que les temps de réaction sont indépendants de la concentration du catalyseur et que leurs rapports sont proches des valeurs théoriques correspondant à l'ordre un.

La réaction $TbI \rightarrow TbII$ est de l'ordre un.

III. Calcul des constantes de vitesse des réactions



III. 1. Variation des concentrations des particules TbI, TbII et TbIII au cours du temps

Etude expérimentale

Pour déterminer la présence des différentes particules et leur concentration (en %) au cours de la réaction, nous avons examiné les réactions successives dans leurs différentes étapes.

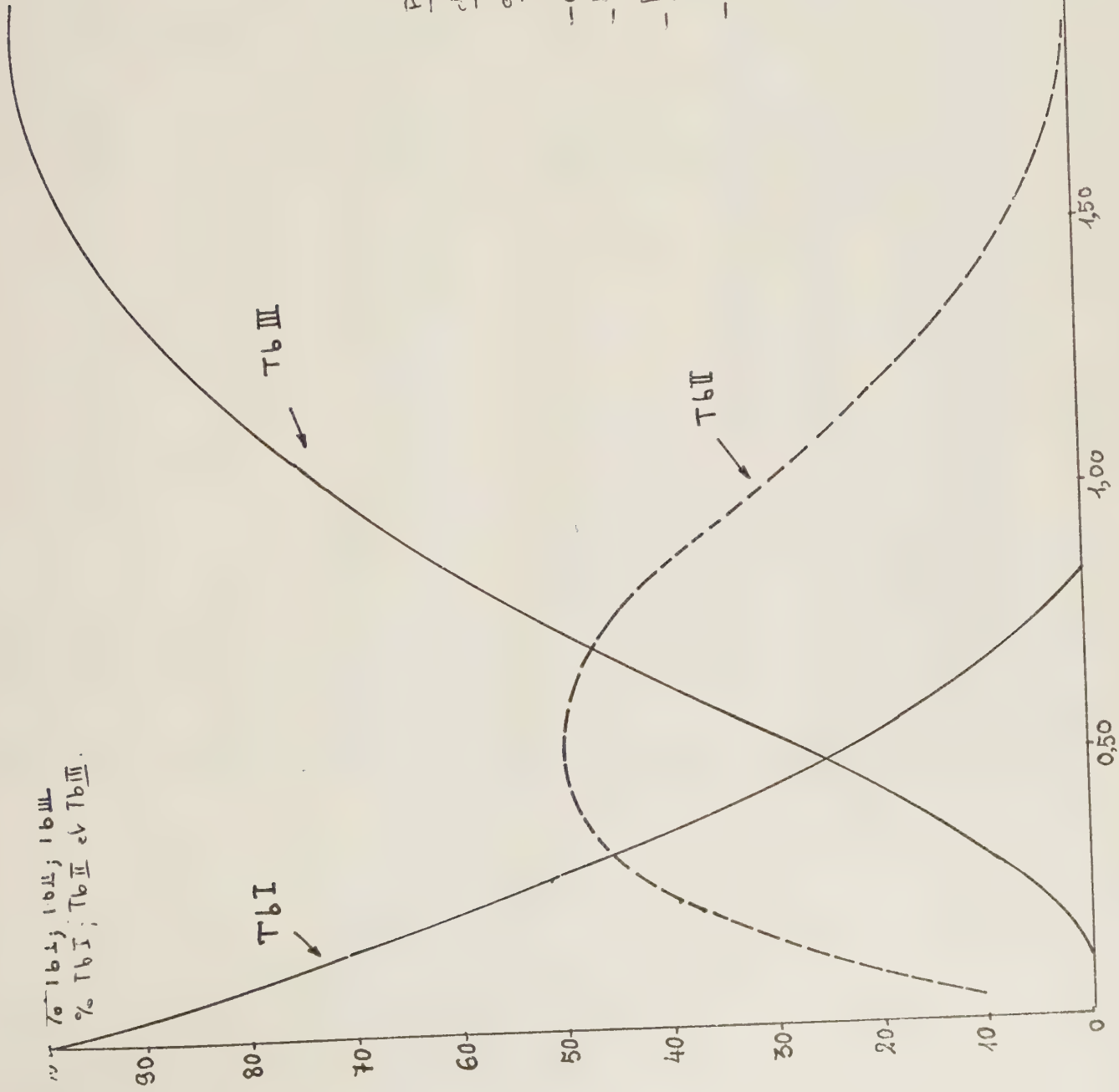


Fig. 10 Les concentration (en %) des particules TbI, TbII et TbIII au cours du temps

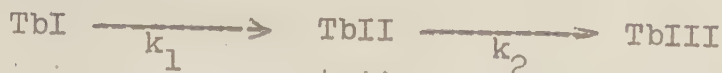
- concentration en iode : 300mg / ml.
- température : 25°C.
- $[TbI]_0 : 1,575 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (100%)
- $[TbII]$ est calculé par la formule $[TbII] = 100 - ([TbI] + [TbIII])$

Tableau VI. Concentration des particules TbI, TbII, TbIII en fonction du temps pour 25° C.

Temps min ($\times 10^{-2}$)	TbI		TbII		TbIII	
	%	Mole 10^{-5}	%	Mole 10^{-5}	%	Mole 10^{-5}
0	100	1,575	0	0	0	0
5	87,5	1,378	12,5	0,197	0	0
10	80	1,260	20	0,315	0	0
15	70	1,103	29	0,457	1	0,016
20	64	1,008	33	0,520	3	0,047
25	55	0,866	40	0,630	5	0,079
30	47,5	0,748	42,5	0,669	10	0,158
35	41	0,646	46,5	0,732	12,5	0,197
40	34	0,536	48,5	0,764	17,5	0,276
45	29	0,457	49	0,772	22	0,347
50	24	0,378	50	0,788	26	0,410
55	19,5	0,307	49,5	0,780	31	0,488
60	15	0,236	49	0,772	36	0,567
65	10,5	0,165	48,5	0,764	41	0,646
70	6,5	0,102	47,5	0,748	46	0,725
80	1	0,016	44	0,693	55	0,866
90	0	0	37,5	0,591	62,5	0,984
100	0	0	30	0,473	70	1,103
110	0	0	24	0,378	76	1,197
130	0	0	14	0,221	86	1,355
150	0	0	6	0,095	94	1,481
200	0	0	0	0	100	1,575

III. 2. Calcul des constantes k_1 et k_2

Etude théorique :



La vitesse de ces réactions successives est caractérisée par deux constantes k_1 et k_2 . Pour une réaction de premier ordre, nous pouvons écrire les équations suivantes : (22)

$$\frac{d[\text{TbI}]}{dt} = -k_1 [\text{TbI}]_0 \quad \text{éq. (1)}$$

$[\text{TbI}]_0$: concentration initiale de la tétrabase

k_1 et k_2 : constantes de vitesse de réaction min^{-1} .

$$\frac{d[\text{TbII}]}{dt} = k_1 [\text{TbI}] - k_2 [\text{TbII}] \quad \text{éq. (2)}$$

$$\frac{d[\text{TbIII}]}{dt} = k_2 [\text{TbII}] \quad \text{éq. (3)}$$

$$\text{Nous savons que : } [\text{TbI}] + [\text{TbII}] + [\text{TbIII}] = [\text{TbI}]_0 = 100 \quad \text{éq. (4)}$$

La courbe de la variation de la concentration de TbII au cours du temps, passe par un max. ; à ce point la dérivée $\frac{d[\text{TbII}]}{dt}$ s'annule.

Pour un temps T_{max} , l'éq. (2) devient :

$$\frac{d[\text{TbII}]}{dt} = 0 \quad \text{éq. (5)}$$

d'où :

$$k_1 [\text{TbI}] - k_2 [\text{TbII}] = 0 \quad \text{éq. (6)}$$

$$k_1 [\text{TbI}] = k_2 [\text{TbII}] \quad \text{éq. (7)}$$

L'éq.(7) permet de calculer k_2 en connaissant k_1 .

$$k_2 = k_1 \frac{[TbI]}{[TbII]} \quad \text{éq.(8)}$$

La fonction de l'éq.(3) passe par une inflexion. Cette inflexion correspond à un temps T_{infl} pour lequel la première dérivée passe par un maximum et la dérivée seconde s'annule.

Etude expérimentale : nous avons établi (Fig.11.), expérimentalement la courbe d'augmentation de la concentration de TbIII au cours du temps. Nous avons calculé graphiquement la première et la deuxième dérivée de cette courbe. Nous avons constaté que le temps correspondant au maximum de la première dérivée est celui du T_{infl} . On déduit que le T_{max} et le temps max.de la première dérivée s'identifient et que la courbe d'évolution du composé bleu TbII au cours du temps, n'est qu'une courbe dérivée de celle de la TbIII.

On peut écrire encore :

$$\frac{d^2[TbIII]}{dt^2} = k_2 \frac{d[TbII]}{dt} \quad \text{éq.(9)}$$

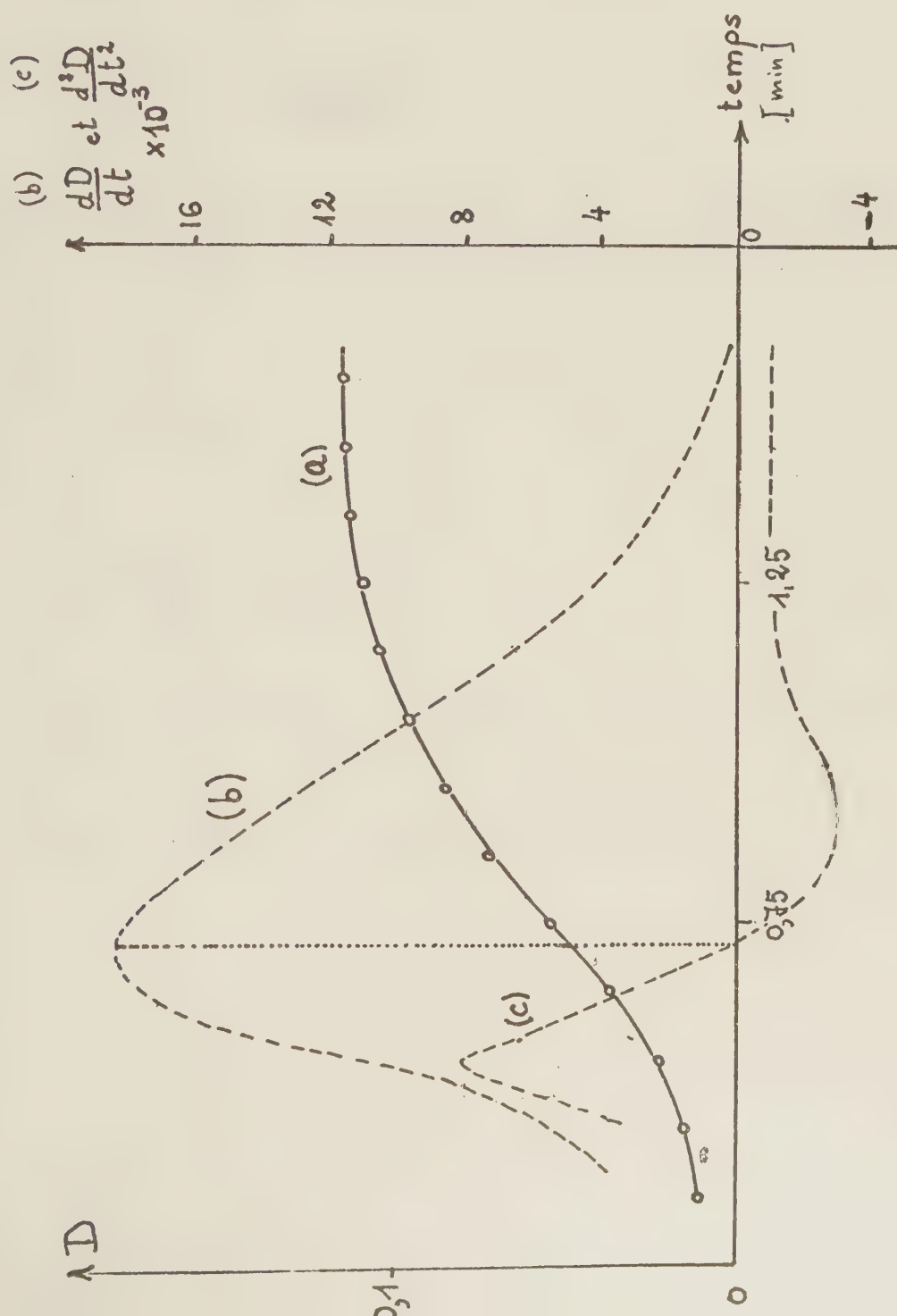


Fig.11. Courbe de la formation de la TbIII au cours du temps

($\lambda = 460 \text{ nm}$)

(a) formation de TbIII

(b) dérivée première de la

courbe (a)

(c) dérivée seconde de la

courbe (b)

Concentration en iode : 100 ng/ml

Appareil Beckman DB-G

Cuve en verre de 1 cm

Calcul de k_1 :

Le k_1 peut être tiré de l'éq.(1),

$$\frac{d[TbI]}{dt} = -k_1 [TbI]_0 \quad \text{éq.(1)}$$

qui donne l'exponentielle suivante

$$\frac{[TbI]}{[TbI]_0} = e^{-k_1 t}$$

$$\ln \frac{[TbI]}{[TbI]_0} = -k_1 t$$

$$k_1 = \frac{2,303}{t} \cdot \log \frac{[TbI]_0}{[TbI]}$$

Prenons un exemple où il ne reste plus que 25% de la concentration initiale de la TbI (Fig.13)

$$[TbI]_0 = 100$$

$$[TbI] = 25$$

$$t_{3/4} = 0,50 \text{ min}$$

$$k_1 = \frac{2,303}{0,50} \cdot \log \frac{100}{25}$$

$$k_1 = 2,303 \cdot \frac{1}{0,50} \cdot \log 4$$

$$k_1 = 2,303 \cdot 2 \cdot 0,602 = 2,77 \text{ min}^{-1}$$

En changeant le rapport $\frac{[TbI]_0}{[TbI]}$, le temps t de la réaction change aussi ; à l'aide de la formule de l'éq.(12), nous pouvons calculer d'autres valeurs de k_1 . Pour ce faire nous reprenons les valeurs indiquées dans le tableau IV page 56, et nous déterminons les k_1 pour les différents temps de réaction ($t_{1/2}$, $t_{1/4}$, etc). Les résultats sont portés dans le tableau VII.

Tableau VII. Calcul de k_1 pour les différents temps de réaction

temps de réaction	% de particules de TbI présentes	200 ng I ⁻ /ml		400 ng I ⁻ /ml	
		temps de réaction min	k_1 min ⁻¹	temps de réaction min	k_1 min ⁻¹
$t_{1/4}$	75	0,09	3,35	0,11	2,74
$t_{1/3}$	66,7	0,14	2,90	0,15	2,71
$t_{1/2}$	50	0,24	2,89	0,26	2,67
$t_{3/4}$	25	0,50	2,77	0,45	3,08

Le k_1 moyen = 2,89 min⁻¹. La précision a été calculée pour 95% de probabilité, et elle est de $\pm 17\%$: 2,89 $\pm$ 0,5 min⁻¹.

Calcul de K_2 :

k_2 peut se calculer par les équations exponentielles suivantes, tirées des éq.(2) et (3).

$$\frac{[TbII]}{[TbI]_0} = \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad \text{éq. (13)}$$

$$\frac{[TbIII]}{[TbI]_0} = 1 - \frac{k_2}{k_2 - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{k_1}{k_2 - k_1} e^{-k_2 t} \quad \text{éq. (14)}$$

Mais nous avons déterminé le k_2 à partir de la courbe de l'évolution de TbII où la dérivée s'annule pour le temps T_{max} . (Fig. 15.)

$$\frac{d[TbII]}{dt} = 0 \quad \text{éq. (5)}$$

L'éq.(2) devient :

$$\frac{d[TbII]}{dt} = k_1 [TbI] - k_2 [TbII] = 0 \quad \text{éq. (15)}$$

et

$$k_2 = k_1 \frac{[TbI]}{[TbII]} \quad \text{éq. (8)}$$

Exemple : $k_1 = 2,77 \text{ min}^{-1}$

$$[TbI] = 25\%$$

$$[TbII] = 50\%$$

$$k_2 = 2,77 \cdot \frac{25}{50} = 1,36 \text{ min}^{-1}$$

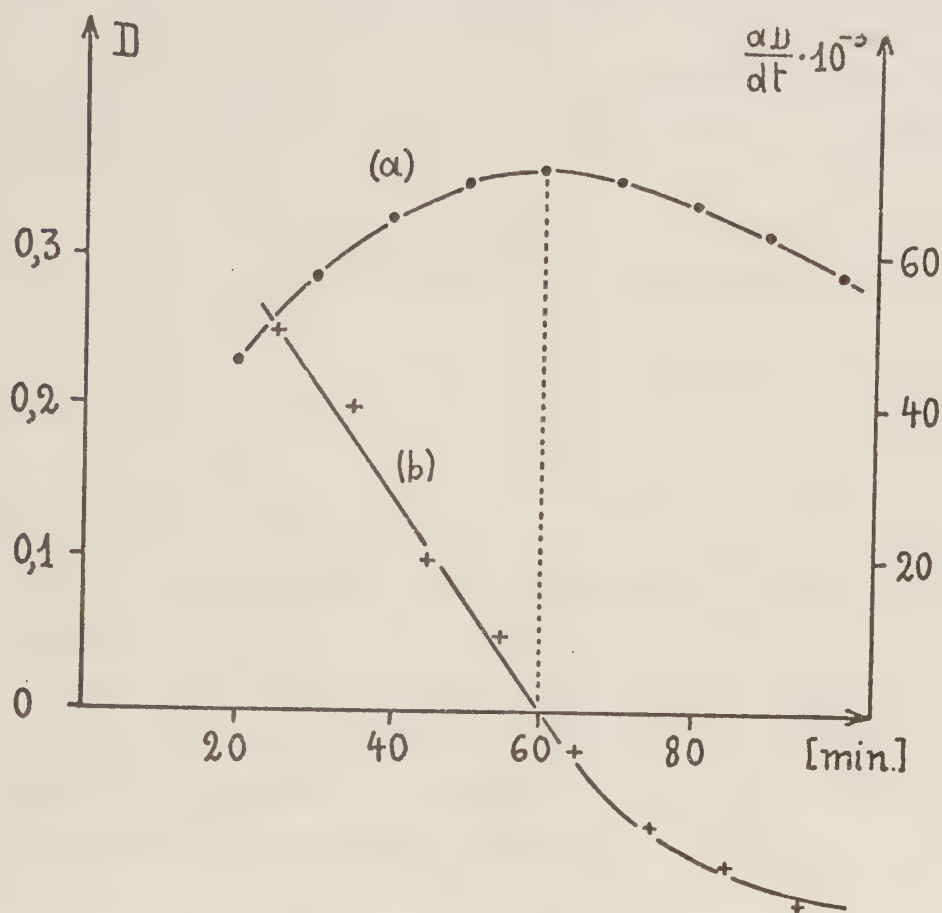


Fig. 12. Courbe de l'évolution de la TbII au cours du temps

(a) $D = f(\text{temps})$ de la TbII

(b) la dérivée première de la courbe (a)

Concentration en iode 100 ng/ml

$\lambda = 600 \text{ nm}$

Appareil Beckman DB-G ; cuve en verre de 1 cm

IV. Influence de la température sur la vitesse de réaction

La température a une influence importante sur la vitesse des réactions. Lorsqu'elle varie, la valeur de la constante de vitesse k varie.

ARRHENIUS constata que la loi de la variation de k avec la température peut être représentée par la relation qui porte son nom :

$$k = A e^{-E/RT} \quad \text{éq. (1)}$$

ou

$$\ln k = -\frac{E}{RT} + \ln A \quad \text{éq. (2)}$$

A : facteur de fréquence (même unité que la constante de vitesse)

E : énergie d'activation kcal. mole⁻¹

R : constante des gaz parfaits 8,314 JoulesK⁻¹mole⁻¹

T : température absolue du milieu 273,2 °K

k : constante de vitesse de réaction

Nous avons étudié la variation de k_1 en fonction de la température et nous avons choisi les températures de 15, 25, 35° C.

A 25°C, la constante k_1 a été calculée dans le chapitre précédent. Elle vaut 2,89 min⁻¹.

Pour les températures de 15° et de 35° C, nous avons tracé la courbe de la diminution de la concentration de TbI au cours du temps et déterminé les temps de réaction ainsi que leurs rapports (tableau VIII).

Tableau VIII. Rapport des temps de réaction pour 15° et 35°C

rapports des temps de réaction	15°C valeur trouvée	35°C valeur trouvée	valeur théorique pour ordre un
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/3}}$	1,80	1,87	1,70
$\frac{t_{1/2}}{t_{1/4}}$	2,25	2,50	2,41
$\frac{t_{1/3}}{t_{1/4}}$	1,25	1,33	1,41

Nous constatons que le changement de la température ne modifie pas l'ordre de la réaction qui reste un.

Les valeurs de k_1 ont été calculées pour 15 et 35°C et portées dans le tableau IX.

Tableau IX. Valeurs de k_1 pour 15 et 35°C

temps de réaction	% Tbl présent	15° C		35° C	
		temps min	$k_1 \text{ min}^{-1}$	temps min	$k_1 \text{ min}^{-1}$
$t_{1/4}$	75	0,20	1,44	0,06	4,80
$t_{1/3}$	66,7	0,25	1,55	0,08	5,07
$t_{1/2}$	50	0,45	1,54	0,15	4,62

Pour 15° C le k_1 moyen est de 1,51 min^{-1}

Pour 35° C le k_1 moyen est de 4,83 min^{-1}

En résumé, nous pouvons écrire les données suivantes (Fig.13.) :

Température	°C	15	25	35
k_1	min^{-1}	1,51	2,89	4,83

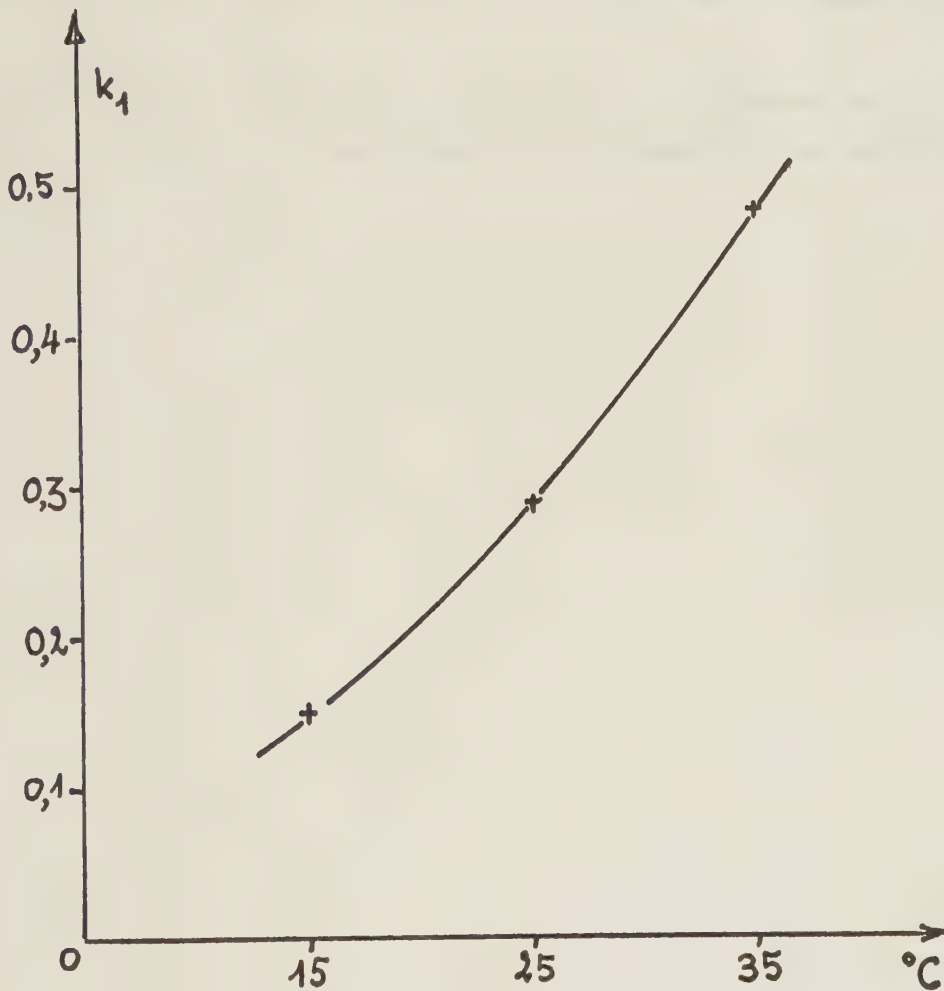


Fig. 13. Variation de k_1 en fonction de la température

Conclusion

Nous avons constaté (page 66,) d'une part que pour une température donnée de 25° C, la valeur de k_1 est le double de celle de k_2 .

$$k_1 = 2 k_2$$

La réaction $\text{TbI} \rightarrow \text{TbII}$ est plus rapide que la réaction $\text{TbII} \rightarrow \text{TbIII}$.

D'autre part, la température augmente la vitesse de la réaction et le k_1 est une fonction croissante de celle-ci (Fig. 13.).

TROISIEME PARTIE

"Séparation de nanogrammes d'iode par microdiffusion
isothermique et dosage catalytique".

I. Introduction

Etant donnée l'importance du rôle joué par l'iode dans les organismes vivants, le dosage de cet élément a fait l'objet de nombreuses recherches, en particulier dans les milieux minéraux (eaux, sels), organiques (sols, dérivés iodés) et biologiques (sang, urine, salive, tissus, etc.).

L'iode s'y trouvant à l'état de submicrotracce, son dosage pose des problèmes délicats, particulièrement en ce qui concerne les pertes.

Le dosage d'iode dans les divers échantillons cités ci-dessus exige le plus souvent une minéralisation et une séparation qui peuvent, dans certains cas, s'effectuer simultanément.

Le principe de la méthode de la minéralisation a été donné en 1938 par LEIPERT (26) et reprise par CHANEY en 1940 (27) puis légèrement modifiée par BAKER (28) en 1948.

C'est une digestion de la substance organique en limieu sulfo-chromique qui a pour effet de transformer l'iode en iodate. Ce dernier est alors réduit (par PO_3H_3) en I_2 . L'iode est distillé et reçu dans une solution alcaline (NaOH). Il est dosé ensuite colorimétriquement par son effet catalysant sur la réaction CeIV-AsIII (29).

En 1955, SPITZY et coll. (30, 31, 32) proposent une minéralisation acide suivie d'une distillation isothermique. CONWAY (33), PIRT-CHAIN (34) et OBRKIN-ULFENDAHL (35) ont les premiers étudié la microdiffusion isothermique de l'iode. Ce dernier a dosé 1 μmole d' I^- , après une oxydation bichromique en présence d'ac. sulfurique 0,47 % avec un rendement moyen de 93 %.

Actuellement, on minéralise de préférence par l'incinération alcaline à température élevée.

Ce procédé, proposé en 1944 par SALTER et Mc KAY (36), a été utilisé par BARKER et coll. (37) pour les dosages cliniques.

Après réduction en milieu acide, on dose l'iode par la méthode catalytique CeIV-AsIII .

Certains auteurs minéralisent l'échantillon par l'ac. perchlorique, et dosant l'iode par la colorimétrie (AsIII-CeIV), (37, 38, 39, 40).

La méthode d'activation aux neutrons thermiques a été aussi employée sur le sang (41, 42, 43, 44), mais elle est peu utilisée pour les analyses de routine.

Une étude critique de ces méthodes a été faite par MORVAN (45), ACLAND (46) et RONCHETTI (47).

Nous allons appliquer notre méthode de dosage d'iode aux eaux minérales et à la salive. La teneur en iode de cette dernière présente un certain intérêt, car la relation entre l'iode salivaire et la fonction thyroïdienne n'a pas été encore établie d'une façon certaine. (48 et 49).

II. Principe de la méthode

Nous nous sommes inspirés pour la minéralisation de l'échantillon et la réduction de l' IO_3^- de la méthode de LEIPERT (26) modifiée par SPITZY (32) et l'avons adaptée à notre méthode de dosage. Après minéralisation sulfo-chromique et réduction de l'iodate en iode, nous avons séparé l'iode par microdistillation.

SPITZY et coll. effectuent l'opération d'oxydation et de réduction dans des éprouvettes "en forme de pipe", permettant une diffusion isothermique, sous pression réduite et à 50°C .

Nous effectuons ces opérations dans des cuves de Conway, sous pression ordinaire, à 70°C , mais la diffusion isothermique est accélérée, les cuves étant placées sur un plateau vibrant à 50 périodes/sec.

I_2 distillé est absorbé sur NaOH sec. Cette séparation a l'avantage d'être très rapide et une série de dosages peut être effectuée dans la même journée.

III. Etude Analytique

III. I. Réactifs (32)

- solution d'ac. sulfurique : 73% (v/v) 27 ml d'eau trid. et 73 ml d'ac. sulfurique $d = 1,84$.
- solution d'ac. chromique 60% (p/v) : 60 gr. d'ac. chromique dissous dans l'eau trid. et complété à 100 ml.
- solution d'ac. phosphoreux 60% : 60 gr. de PO_3H_3 dissous dans l'eau trid. et complété à 100 ml.
- solution de NaOH 10% (p/v).
- solution standard de IK à 100 ng/ml ($7,89 \cdot 10^{-7}\text{M}$) (voir Première Partie).
- solution d'ac. acétique 2N.
- solution acétique de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4}\text{M}$.
- solution de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4}$.

III. 2. Appareillage

- cuves de Conway de dimensions suivantes :

diamètre ext. D		77 $\pm$ 1 mm
diamètre int. d		35 $\pm$ 1 mm
hauteur du compartiment ext. H		12 $\pm$ 1 mm
hauteur du compartiment int. h		9 $\pm$ 1 mm
poids d'une cuve P		43 $\pm$ 3 gr.
- cuvettes pour le compartiment int. de diamètre 28 $\pm$ 1 mm
- couvercles en verre lisse
- lampes à IR
- plateau vibrant de 50 périodes/sec. J. Köttermann K.G. Type 4031
- spectrophotomètre Beckman DB-G
- cuves colorimétriques en verre.

III. 3. Essais préliminaires

Nous avons suivi les différents stades de l'analyse par un traceur ^{125}I ($T = 60$ jours, $E_{\gamma} = 0,035$ Mev) ou ^{131}I .

(Compteur à scintillations Landis et Gyr, Type ELB2).

Minéralisation sulfo-chromique

Cette opération, nous l'avons réalisée en présence d'un traceur pour déterminer les pertes éventuelles de l'iode ; elle est effectuée dans un ballon à distiller (Fig. 1.).

Mode opératoire

On introduit dans le ballon 1 ml de la solution standard d'iode à 25 ng/ml, 1 ml d'iode radioactif à activité connue et de quantité négligeable, 3,6 ml d'ac. sulfurique 73% (v/v), 0,36 ml d'ac. chromique 60% (p/v), 2 ml d'eau trid..

Dans l'éprouvette graduée, on place 2 ml de NaOH 10% (p/v). Les réactifs sont introduits dans le ballon par l'entonnoir à robinet pour éviter la perte éventuelle d'iode. Pendant cette opération, la tubulure latérale plonge dans la solution de NaOH. A la fin de cette opération, la radioactivité de la solution NaOH est mesurée, et on constate qu'il n'y a pas de perte, aux erreurs de mesure de la radioactivité près ($\pm 5\%$).

On plonge le ballon dans un bain d'huile à 130°C . dont on laisse monter lentement la température jusqu'à 190° , pendant 40 min ; la solution devient verte. On arrête la digestion et on mesure l'activité de la solution alcaline. On n'observe aucune perte pendant la digestion.

L'iode se trouve sous forme d'iodate.

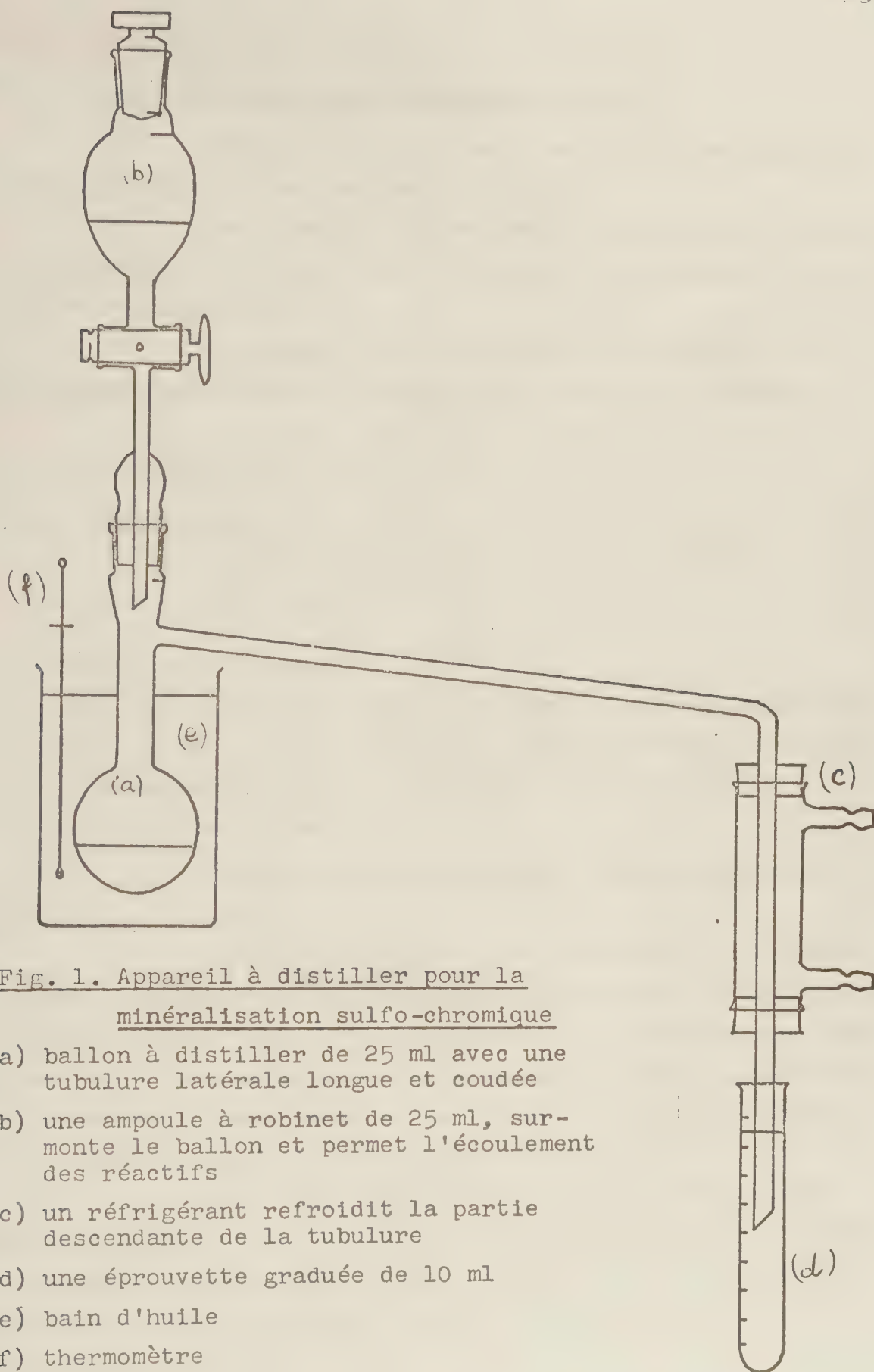


Fig. 1. Appareil à distiller pour la
minéralisation sulfo-chromique

- a) ballon à distiller de 25 ml avec une tubulure latérale longue et coudée
- b) une ampoule à robinet de 25 ml, surmonte le ballon et permet l'écoulement des réactifs
- c) un réfrigérant refroidit la partie descendante de la tubulure
- d) une éprouvette graduée de 10 ml
- e) bain d'huile
- f) thermomètre

III. 4. Microdiffusion des nanogrammes d'iode

Cette microdiffusion à partir d'une solution sulfo-chromique concentrée est délicate.

Pour obtenir un rendement maximum de la micro-distillation, nous avons étudié les facteurs agissant sur la vitesse de cette dernière.

Le temps. La diffusion de la substance volatile au cours du temps s'exprime par l'équation suivante :

$$v = \frac{dx}{dt} = k (a-x)$$

et par integration :

$$\log \frac{a}{a-x} = kt$$

v : vitesse de diffusion

a : conc. initiale de la substance dans la chambre extérieure

x : conc. de la substance diffusée dans la chambre intérieure

t : temps pendant lequel une quantité x a diffusé

k : constante de diffusion

Le temps de diffusion est indépendant de la concentration initiale.

Nous avons étudié la vitesse de la diffusion au cours du temps sur des solutions aqueuses de 50 ng/d'iode/ml. Le traceur est l'iode ^{131}I . Les cuves sont placées dans une étuve de 70°C. On sort les cuves après 24, 48, 72, 96 heures et on mesure l'activité de la solution ext., de la solution int. et de la silicone. (Tableau I et Fig. 2.).

Les pertes proviendraient en partie du fait que nous n'avons pas pu prélever quantitativement la silicone. La quantité d'iode adsorbée par celle-ci doit donc être plus élevée que celle déterminée par nos soins.

On observe que l'iode adsorbé sur la silicone diminue légèrement avec le temps, comme s'il rediffusait vers la chambre intérieure.

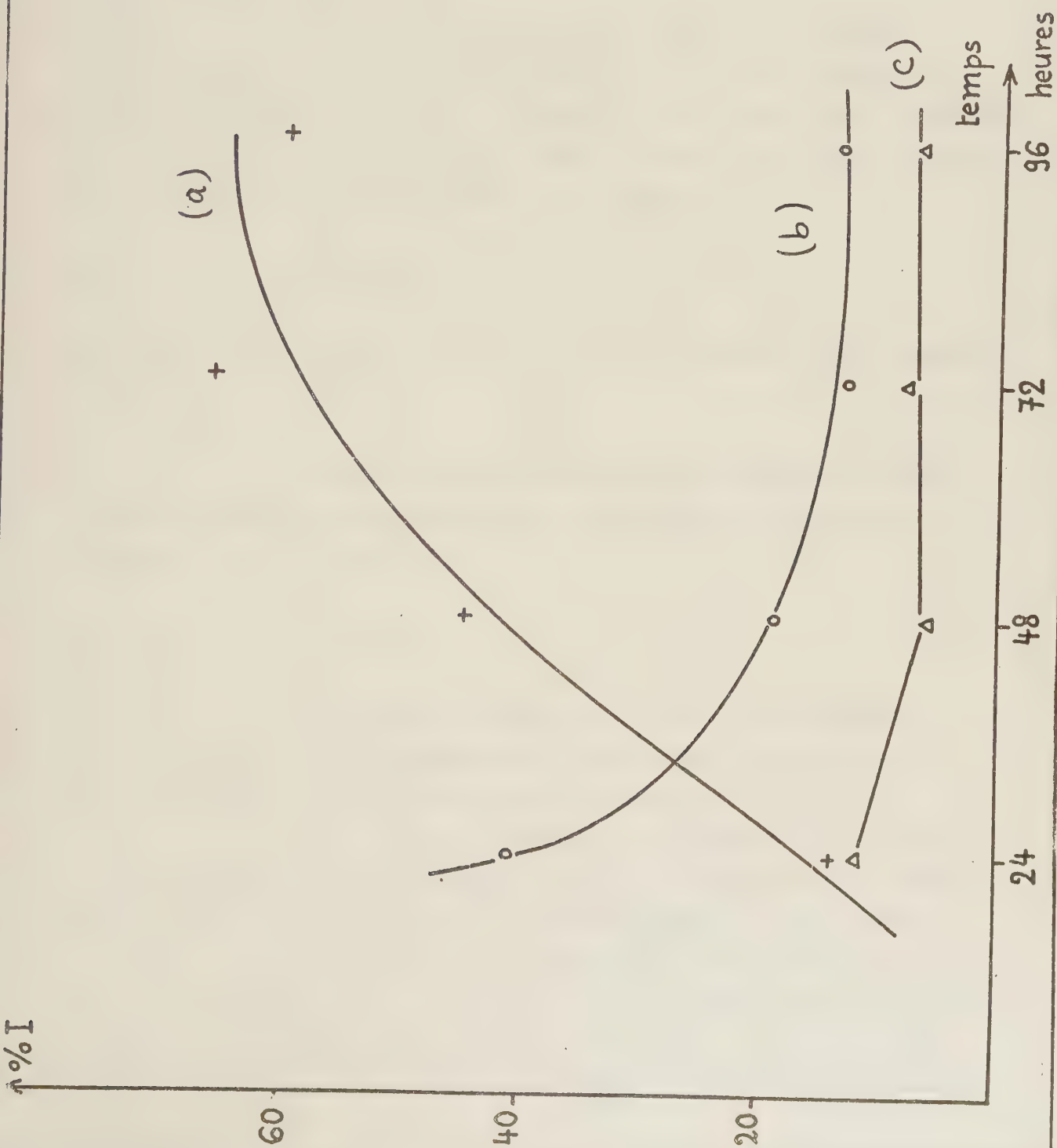
Même après un temps très élevé, nous ne récupérons pas plus de 66% de l'iode ; cette technique n'est donc pas utilisable pour des quantités de l'ordre de ng.

Tableau I. Vitesse de diffusion d'I₂ au cours du temps

Conc. en iode : 50 ng/ml ; étuve à 70°C.

temps hrs	% I ₂ diffusé	% I ₂ reste	% I ₂ silicone	% I ₂ total retrouvé	% I ₂ perte
24	14	41	12	67	33
48	45	19	6	70	30
72	66	13	8	87	13
96	60	14	7	81	19

Fig.2. Vitesse de diffusion
d'I₂ au cours du temps
 (a) %d'iode diffusé ;
 (b) % d'iode restant dans le
 compartiment ext.
 (c) % d'iode dans la silicone
 Conc. d'iode 50 ng/ml.
 Etuve à 70° C..



Nous avons cherché à rendre cette microdiffusion plus quantitative et plus rapide en augmentant la température ; mais ce facteur n'améliore pas sensiblement les résultats.

Par contre, la vitesse de diffusion dépend de la dimension des cuves, du volume des liquides et de la surface de ces derniers.

Il est évident que la solution contenant l'iode, placée dans le compartiment ext., doit recouvrir toute la surface, sur une épaisseur aussi faible que possible. Il y a une relation entre le temps de diffusion t , le volume V et la surface s de la chambre extérieure.

$$t = f \left(V, \frac{1}{s} \right)$$

Il faut donc dans la mesure du possible réduire V et augmenter s .

D'autre part, la solution absorbante placée dans le compartiment int., doit présenter une surface s' maximum.

$$t = f \left(\frac{1}{s'} \right)$$

Pour nos dosages, le volume ext. minimum est de 5 ml, ce qui représente une couche d'épaisseur de 0,1 à 0,2 cm. sur une surface de $0,465 \text{ cm}^2$.

En ce qui concerne la chambre int., nous y avons introduit 2 ml de NaOH 2,5 N. La solution ext. étant très avide d'eau (solution sulfochromique), il se crée un courant de vapeur d'eau, de l'intérieur à l'extérieur, qui a deux inconvénients : mettre à sec le compartiment int. et ralentir le courant de vapeur d'iode qui se fait en sens inverse. De plus le verre est attaqué par la solution de

soude qui se concentre de plus en plus.

Pour éviter des inconvénients, nous avons utilisé de petites cuvettes renfermant 10 mg de laine de quartz imbibé de 0,2 ml de NaOH 2,5 N, pouvant se placer dans le compartiment intérieur. Ceci permet une augmentation de la surface s' . D'autre part nous avons soumis les cuves à une vibration qui a pour effet d'augmenter considérablement la surface du compartiment extérieur.

Les cuves sont placées sur un plateau vibrant à 50 périodes/sec. et ce dispositif est chauffé de 70° à 80° C. par des lampes à IR (Fig. 3.).

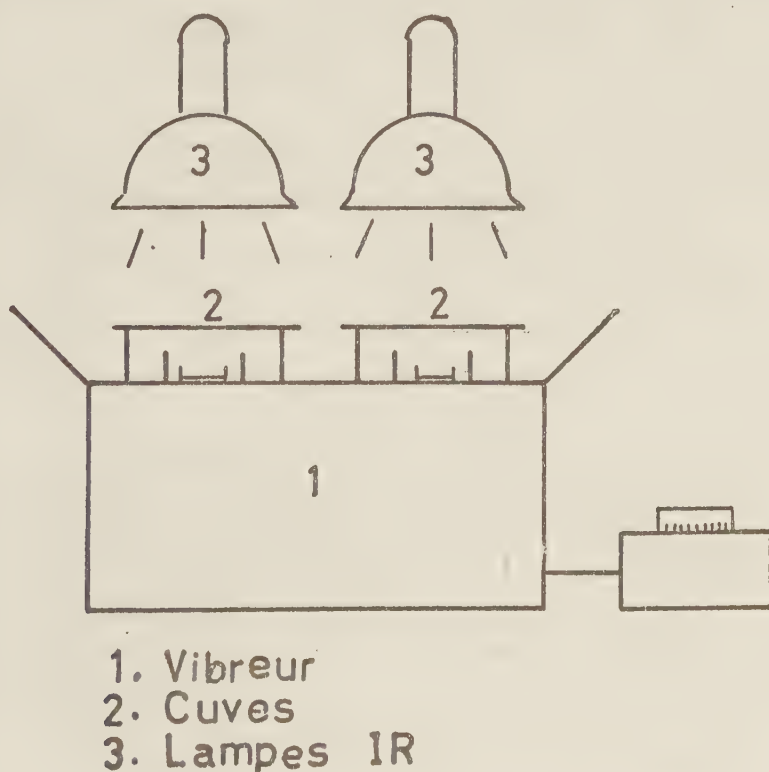


Fig. 3. Dispositif cuves-vibreux

Le plateau comporte 4 cuves de Conway, retenues par des cordons de caoutchouc. L'intensité de la vibration de 50 périodes/sec. peut être modifiée à l'aide d'un variac.

Pour assurer une vibration constante à chaque cuve, le poids de chacune d'elles doit être approximativement le même.

Nous avons tracé la courbe de diffusion d'iode au cours du temps pour des solutions renfermant 50 ng/ml d'iode, marquées à $1,^{131}\text{I}$. (Tableau II. Fig. 4.).

Tableau II. Vitesse de diffusion de 50 ng d'iode/ml au cours du temps, augmentée par vibration
Température 70 à 80° C.

temps hrs	% I ₂ diffusé	% I ₂ reste	% I ₂ silicone	% I ₂ tot. re- trouvé	% I ₂ pertes non déterminées
1	15	55	1	71	29
2	42,5	35	1,5	79	21
3	60	22,5	2	84,5	15,5
3,5	75	16	2	93	7
4	80	9	1,5	90,5	9,5
4,5	89	10	3	102	- 2
5	92	5	3	100	0
6	87	5	4,5	96,5	3,5

Remarque : chaque valeur est la moyenne arithmétique de deux points. On constate qu'après 4,5 heures, la récupération est d'environ 90% ($\pm 5\%$). Pour des quantités de l'ordre du ng, on peut considérer cette séparation comme satisfaisante, d'autant plus que les valeurs sont assez reproductibles. En multipliant les résultats par 1,11, on peut considérer que l'erreur est de $\pm 5\%$.

Ces résultats sont obtenus par des comptages de la radioactivité (sans dosage colorimétrique).

Remarquons encore que les pertes sur la silicone sont faibles.

Ces études préliminaires ont permis de déterminer les conditions les meilleures pour le dosage de ng d'iode.

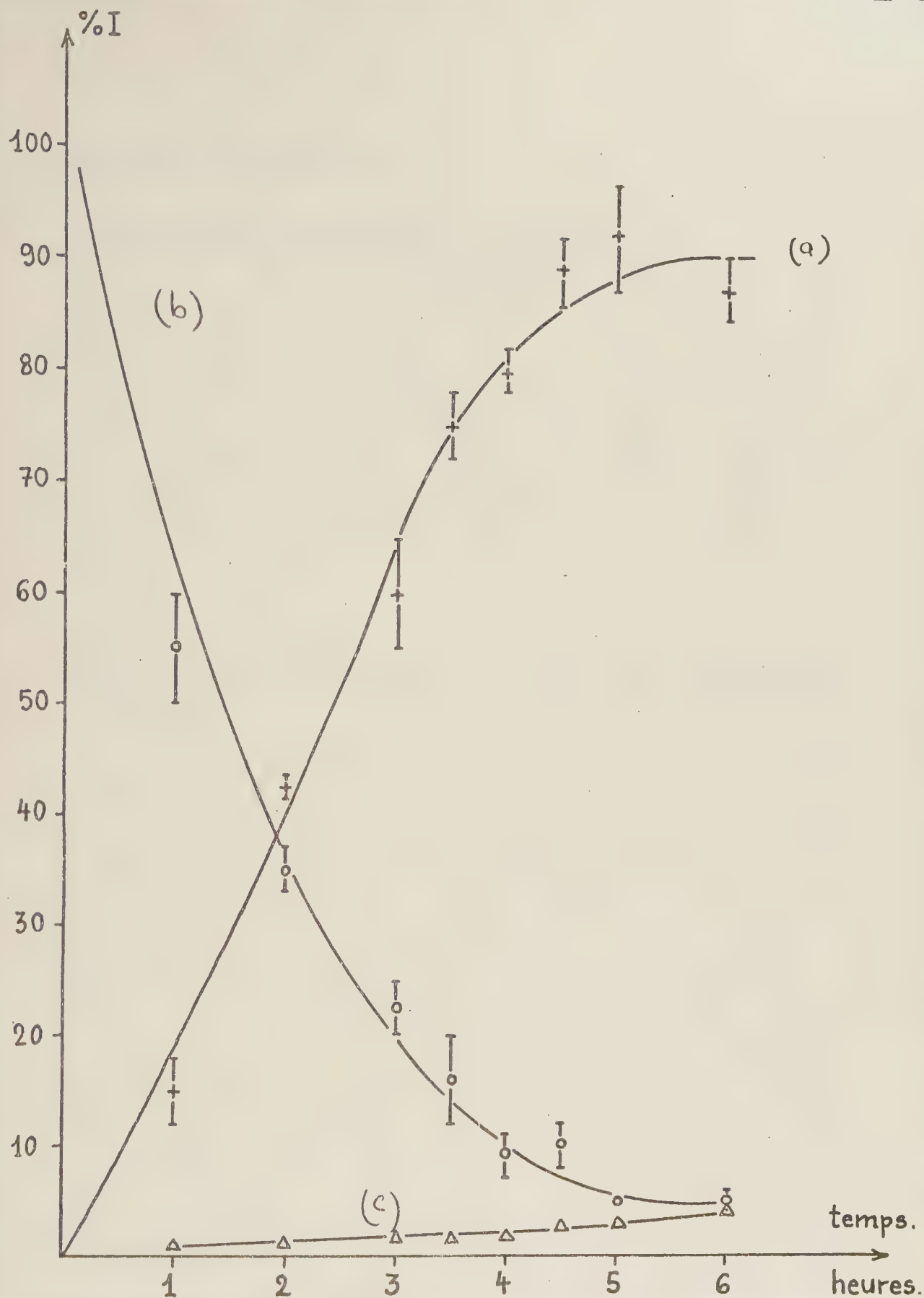


Fig. 4. Vitesse de diffusion d'iode au cours du temps augmentée par vibration.

(a) % d'I₂ diffusé ; (b) % d'I₂ restant ;

(c) % d'I₂ dans la silicone

Concentration d'iode : 50 ng/2ml ; température 70 à 80°C.

IV. Mode Opérateur

- Minéralisation et oxydation sulfo-chromique

A 0,5 ml d'échantillon que l'on place dans la partie ext. d'une cuve de Conway, on ajoute 6 ml d'ac. sulfurique 73% (v/v), 0,6 ml d'ac. chromique 60% (p/v) et 2 ml d'eau trid.. On mélange bien les réactifs par un mouvement rotatoire, on place les cuves sans couvercle sous une lampe à IR où la température augmente lentement jusqu'à 200°C.. La solution devient verte. L'iode est transformé en iodate. Cette opération dure environ 1 heure.

- Réduction d'iodate en iode et la diffusion isothermique dans NaOH

On refroidit les cuves sur un bain de glace et on ajoute 1 ml d'eau trid. à la solution verte. On silicone le bord des cuves. Dans le compartiment int. on place une cuvette contenant environ 10 mg de quartz imbibé de 0,2 ml de NaOH 2,5 N. On ajoute alors 1,2 ml d'ac. phosphoreux 60% (p/v) au compartiment ext., les cuves étant toujours sur le bain de glace, pour éviter toute perte d'iode. On ferme les cuves avec une plaque de verre et on assure l'étanchéité au moyen des pinces appropriées. On mélange bien les réactifs des cuves par des mouvements rotatoires doux. On pose les cuves sur le plateau vibrant. Le dispositif cuves-vibreux est chauffé par 2 lampes à IR à une température de 70 à 80°C.. La vibration est maintenue pendant 5 heures. L'I₂ formé diffuse quantitativement du compartiment ext. vers le compartiment int. où il est retenu sous forme de NaOI.

- Dosage colorimétrique d'iode

Le dosage colorimétrique est basé sur l'effet catalytique d'iode dans le système d'oxydation tétrabase-chloramine T (voir Première Partie).

Après avoir arrêté la vibration, on ouvre les cuves encore chaudes et on en sort les cuvettes. A ces cuvettes on ajoute 2 ml d'eau trid. et on mélange bien. On prélève 1 ml de la solution de IONa que l'on introduit dans une éprouvette. On ajoute 1 ml de tétrabase $12,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. La tétrabase précipite en milieu alcalin, on redissout ce précipité avec 0,2 ml d'ac. acétique 2N. Le pH est alors environ 5. On porte le volume à 4 ml avec de l'eau trid.. On additionne 1 ml de chloramine T $8,16 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ et on mesure rapidement la densité optique max. de la coloration bleue dans des cuves colorimétriques de 1 cm, à 600 nm, par rapport à l'eau trid..

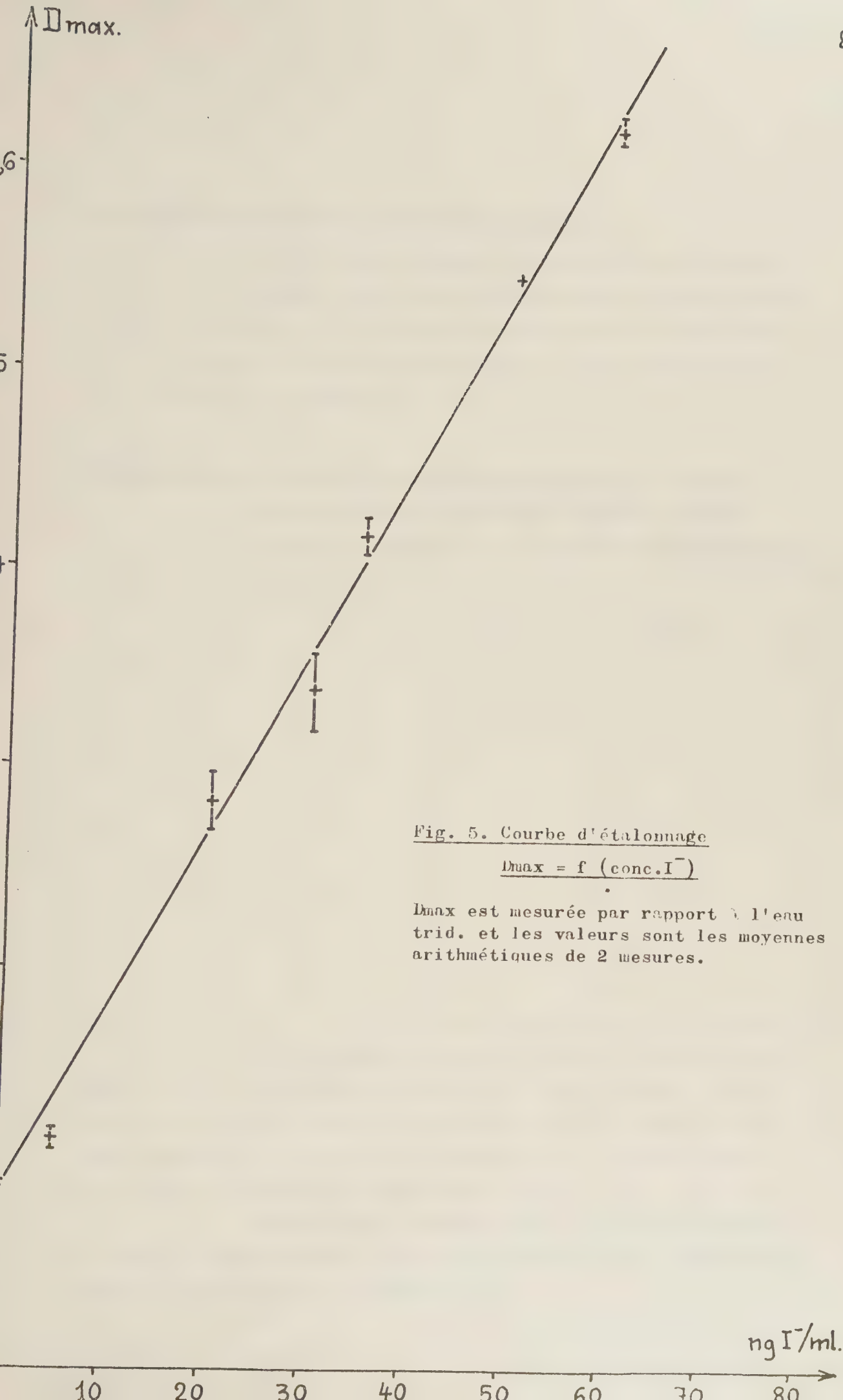
- Courbe d'étalonnage

Elle ne subit ni une minéralisation ni une microdiffusion. Dans les différentes cuvettes on place environ 10 mg de laine de quartz imbibé de 0,2 ml de NaOH 2,5 N. On ajoute à chaque cuvette 1 ml de solution standard d'iode de 0, 20, 40, 60, 80, etc. ng d'I⁻/ml. On sèche à l'étuve 70° pendant 5 heures ; on reprend le résidu encore chaud avec 2 ml d'eau trid., on mélange bien et on procède au dosage colorimétrique comme indiqué plus haut.

Le blanc présente un Dmax qui n'est pas négligeable. On le soustrait de l'analyse et des standards (Fig. 5.).

- Calculs

Le taux d'iode est calculé soit par un étalon interne, soit par un étalon externe, soit par une courbe d'étalonnage décrite ci-dessus, sans minéralisation ni microdiffusion.



V. Dosage des solutions aqueuses d'iodure

Nous avons préparé une série de solutions d'iodure à 50 ng/ml. Sur ces solutions nous avons effectué la minéralisation et la microdiffusion suivie d'un dosage colorimétrique tétrabase-chloramine T. Nous avons obtenu les résultats du tableau III.

Tableau III. Dosage des solutions d'iodure à 50 ng/ml,
par la méthode de microdiffusion, suivie
d'une colorimétrie de tétrabase-chloramine T.

N ^o	valeurs trouvées	valeurs corrigées (facteur de correction 1,14)
1	46	52,4
2	41	46,7
3	42	47,9
4	42	47,9
5	48	54,7
6	40	45,6
7	45	51,3
8	45	51,3
9	46	52,4
10	45	51,3

La déviation standard calculée pour 10 analyses et 95% de probabilité est de 44 ng $\pm$ 5,9 ng. Les résultats trouvés étant toujours plus faibles que les valeurs réelles, il faut tenir compte d'un facteur positif de + 11,8% (facteur de correction 1,14).

L'analyse d'échantillons d'iodure, inconnus de nous et préparés par un de nos collègues au laboratoire a donné les résultats du tableau IV.

L'iode a été dosé par deux procédés différents :

- par la méthode de microdiffusion (méthode M) : l'échantillon est soumis à une minéralisation sulfo-chromique, une séparation isothermique et une colorimétrie de tétrabase-chloramine T.
- par la méthode directe (méthode D) : l'échantillon ne subit ni la minéralisation, ni la microdiffusion ; on dose l'iode directement par son action catalytique sur l'oxydation de la tétrabase par la chloramine T (voir Première Partie).

Tableau IV. Dosage des solutions inconnues d'iodure par la méthode D et M.

No	valeurs réelles ng/ml	Méthode D	Méthode M	
		valeurs trouvées ng/ml	valeurs trouvées ng/ml	valeurs corrigées ng/ml facteur de correction 1,14
1	60	60 $\pm$ 2,0	56	63,8
2	72	70 $\pm$ 3,0	62	70,7
3	48	46 $\pm$ 1,5	39	44,5
4	48	50 $\pm$ 1,5	42	47,9
5	80	72 $\pm$ 3,0	68	77,5

VI. Dosage d'iode dans quelques eaux minérales iodées

Les eaux minérales choisies sont : Ems, Biomaris, Andréas. La teneur en iode et la date de l'analyse de celui-ci sont indiquées sur l'étiquette de la bouteille :

- Ems	20 $\mu\text{g I/litre}$	1962
- Biomaris	44 $\mu\text{g I/litre}$	1952
- Andréas	38 $\mu\text{g I/litre}$	1956

L'analyse de l'iode a été faite par deux procédés différents :

- Méthode de microdiffusion (Méthode M) où l'échantillon subit une minéralisation sulfo-chromique, puis une microdiffusion isothermique ; l'iode ainsi séparé est prêt pour le dosage colorimétrique tétrabase-chloramine T.
- Méthode directe (Méthode D) où l'échantillon est calciné en présence de CO_3Mg pour éviter l'oxydation par la chloramine T des contaminations organiques existant dans les eaux minérales (18), repris avec 4 ml d'eau trid., centrifugé. A 1,5 ml de centrifugat, on ajoute les réactifs nécessaires pour le dosage colorimétrique tétrabase-chloramine T.

Pour les deux méthodes nous avons utilisé l'étalonnage interne ; la valeur de l'étalon interne ajouté aux échantillons est de 20 ng. (Tableau V.).

Les résultats obtenue par la méthode D sont légèrement inférieurs à ceux trouvés par la méthode M ; une très légère perte survient peut-être lors de la calcination avec CO_3Mg .

Tableau V. Analyse de quelques eaux minérales

Méthode M						
Nom de l'eau minérale	I ⁻ donné ng/ml	Analyse trouvée ng/ml	Analyse trouvée corrigée ng/ml facteur de correction 1,14	Analyse + 20 ng I trouvée ng/ml	Analyse + 20 ng I corrigée ng/ml facteur de correction 1,14	Etalon (20 ng I) retrouvé ng/ml
Ems	20	16	18,2	32	36,5	18,3
Biomaris	44	75	85,5	92	104,9	19,4
Andréas	38	29	33,1	45	51,3	18,2

Méthode M : méthode de la minéralisation sulfo-chromique, suivie d'une séparation isothermique et d'une colorimétrie tétrabase-chloramine T.

Tableau V. Analyse de quelques eaux minérales (suite)

Méthode D				
Nom de l'eau minérale	I ⁻ donné ng/ml	Analyse trouvée ng/ml	Analyse + 20 ng I trouvée ng/ml	Etalon (20 ng I) retrouvé ng/ml
Ems	20	$\begin{matrix} 18 \\ 17 \end{matrix} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix} 17,5 \pm 1,2$	$\begin{matrix} 40 \\ 38 \end{matrix} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix} 39 \pm 1,5$	21,5
Biomaris	44	$\begin{matrix} 82 \\ 80 \end{matrix} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix} 81 \pm 4$	$\begin{matrix} 100 \\ 100 \end{matrix} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix} 100 \pm 4,5$	19,0
Andréas	38	$\begin{matrix} 32 \\ 30 \end{matrix} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix} 31 \pm 1,5$	$\begin{matrix} 51 \\ 50 \end{matrix} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix} 50,5 \pm 1,5$	20,5

Méthode D : calcination en présence de CO₃Mg et colorimétrie de tétrabase-chloramine T.

VII. Dosage d'iode dans une substance biologique : la Salive

L'iode salivaire est relativement peu étudié et la teneur d'iode dans la salive des sujets normaux est rarement mentionnée dans la littérature. Cependant BRUGER et coll. (50) donnent la valeur de 3,5 à 24,0 $\mu\text{g/ml}$ (soit $10,2 \pm 5 \mu\text{g/100 ml}$ de moyenne). STOLC propose 6,46 $\mu\text{g/100 ml} \pm 0,77 \mu\text{g/100}$ (51).

L'unité choisie par les auteurs est très différente : on mentionne la salive de 24 heures (48) tout aussi bien que la salive de 1 heure (49).

Il nous a été difficile de trouver une relation parmi les données plus ou moins précises des auteurs. Comme il ne s'agit pas ici de faire une étude clinique, nous nous sommes contentés de doser l'iode dans la salive de 15 sujets dont l'activité thyroïdienne est considérée comme normale.

Nous avons prélevé la salive le matin à jeun et nous exprimons les résultats dans le tableau VI en $\mu\text{g d'I/100 g. de salive}$.

La détermination est faite sur 0,5 gr. d'échantillon par la méthode de la microdiffusion isothermique (voir p.83).

Tableau VI. Dosage d'iode salivaire chez 15 sujets à
activité thyroïdienne supposée normale

N ^o	µg d'iode/100 gr. de salive
1	26,2 (m)
2	10,2 (f)
3	15,3 (m)
4	16,2 (m)
5	23,8 (f)
6	17,2 (f*)
7	12,4 (m)
8	16,0 (m)
9	16,8 (m)
10	20,1 (f)
11	20,3 (m)
12	10,7 (m)
13	17,5 (m)
14	10,7 (f*)
15	27,1 (m)

(f) = femme

(f*) = femme enceinte

(m) = homme

La teneur moyenne de 17,4 µg/100 gr. de salive est comprise entre 27,1 et 10,2 µg/100 gr.

Conclusion générale

L'étude analytique de l'oxydation de la tétrabase par la chloramine T, sous l'effet catalytique d'iode, nous a permis de mettre en évidence une suite de deux réactions dites "successives" (TbI TbII TbIII), caractérisées par les constantes de vitesse k_1 et k_2 . La transformation de la TbI en TbII est catalysée par des traces d'iode ; cette réaction est caractérisée par deux paramètres : $D_{\max}$ et $T_{\max}$, et elle est accélérée par l'augmentation de la conc. du réactif (tétrabase), de la concentration du catalyseur (iode), ainsi que par l'élévation de la température (la concentration de la chloramine T, la nature du tampon et de pH de la solution restent constants).

La variation de la tétrabase et celle de l'iode, pour une température donnée influencent beaucoup la $D_{\max}$, sans changer le $T_{\max}$. Par contre, pour une concentration donnée de la tétrabase et de l'iode, une variation de la température modifie beaucoup le $T_{\max}$ (p. 22, Première Partie) ainsi que les valeurs des constantes de vitesse (p. 69, Deuxième partie).

L'application de cette méthode catalytique au dosage de traces d'iode, dans les solutions pures, n'a pas présenté de difficulté ; par contre, quand il a fallu déterminer le taux d'iode dans des milieux nécessitant une séparation préalable, les opérations se sont révélées délicates et les risques de pertes assez importants.

Le grand inconvénient que nous n'avons pas pu éviter, a été l'emploi de la graisse de silicone qui adsorbe l'iode. Nous n'avons pas pu utiliser, pour les cuves de Conway, le mélange pâteux Bentonite-ac. phosphoreux proposé par SPITZY et coll., (32).

Comme le temps de la distillation isothermique est relativement court, la perte d'iode sur la silicone n'est pas très importante (environ 5%, tableau II p.84).

Remarquons encore que la minéralisation sulfo-chromique de l'échantillon ainsi que la distillation isothermique nécessitent un entraînement certain de la part de l'expérimentateur.

B I B L I O G R A P H I E

=====

- (1) PALETTA
Mikrochim. Acta 1969₅ p. 956-959
- (2) SAVICHEV - VASIL'EVA - GOLOVIN
Zavodsk Lab. 1963 29₁₂ p. 1433-1434
- (3) GANCHEVA
Mikrochim. Acta 1967₄ p. 601-602
- (4) SIERRA - ROMOJARO
Anales real. Soc. espan. fis. y quim. 1953 p. 127-130
- (5) BISHOP
Mikrochim. Acta 1956 p. 629
- (6) BISHOP - DHANESHWAR
Analyt. Chemistry 1964 36 p. 726-730
- (7) SHAIN - PERONE
Analyt. Chemistry 1961 33 p. 325-329
- (8) PLISKA
Z. Anal. Chem. 1961 181 p. 17-24
- (9) BERONIUS
Analytica Chim. Acta 1968 40₂ p. 352-354
- (10) SANDELL - KOLTHOFF
Mikrochim. Acta 1937 1 p. 9
- (11) TOROPOVA - TAMARCHENKO
Zh. analit. khim. 1967 22₂ p. 234.239
- (12) TOROPOVA - TAMARCHENKO
Zh. analit. khim. 1967 22₂ p. 576-581
- (13) BOGNAR - SAROSI
Mikrochim. Acta 1965 p. 1004-1010
- (14) BOGNAR - SAROSI
Mikrochim. Acta 1966₃ p. 534-538
- (15) YONEHRA
Bull. Chem. Soc. Japon 1964 37₈ p. 1101-1107

- (16) BABKIN
Lab. Delo 1967 7 p. 429-430
- (17) PROSKURYAKOVA
Zh. analit. khim. 1967 22₅ p. 802-804
- (18) FEIGL - YUNGREIS
Z. Analyt. Chem. 161 1958 p. 87
- (19) JUNGREIS - GEDALIA
Mikrochim. Acta 1960 24 p. 145
- (20) BALLEZO
Monatshefte für Chem. 1968 99 p. 2480-2493
- (21) YATSIMIRSKII
"Kinetic Methods of Analyses" Pergamon Press p.13
- (22) FROST - PEARSON
"Kinetics and Mecanism" sec. ed. p. 166
- (23) BEN.AIM - DESTRIAU
"Introduction à la Cinétique Chimique" Dunod 1967 p. 29
- (24) RODIGUIN - RODIGUINA
"Consecutive Chemical Reactions" D. Van Nostrand Company
INC. 1964
- (25) CHARLOT
"Les méthodes de la chimie analytique. Analyses
quantitatives minérales" Ed. Masson 1961
- (26) LEIPERT
Biochem. Z. 1933 261 p. 436
- (27) CHANEY
Industr. Eng. Chem. Anal. Ed. 1940 12 p. 179-181
- (28) BARKER
J. Biol. Chem. 1948 173 p. 715-724
- (29) SANDELL - KOLTHOFF
Mikrochim. Acta 1937 1 p. 9
- (30) SPITZY
Mikrochim. Acta 1955 1 p. 130

- (31) SPITZY - LIEB
Mikrochim. Acta 1956 1₆ p. 273
- (32) SPITZY - REESE - SKRUBE
Mikrochim. Acta 1958 4 p. 488-508
- (33) CONWAY
"Microdiffusion Analyses and Volumetric Error 5e ed.
1962 London
- (34) PIRT - CHAIN
Bioch. J. 1952 50 p. 716
- (35) OBRINK - ULFENDHAL
Acta Societatis Medicorum Uppsaliensis 1959 64₃₋₄
p. 384
- (36) SALTER - MC KAY
Endocrinology 1944 35 p. 380
- (37) HASCHEN - REHFELD
Dtsch - Gesundheitswes. 1963 18₃₇ p. 1589-1595
- (38) BENOTTI - BENOTTI
Clin. Chem. 1963 9₄ p. 408-416
- (39) LEFFLER - DOUGLALD
Amer. J. Clin. Path. 1964 41₁ p. 95-100
- (40) GARDINER - BURNS
Clin. Chem. 1964 10₁₂ p. 1137-1146
- (41) KELLERSHOHN - COMAR - LE POEC
International j. f. applied Radiations and Isotopes
1961 12 p. 87-103
- (42) BIANQUET - RIVIERE - KELLERSHOHN
Ann. Fac. Sci. Univ. Clermont, phys.
1963 2₁₄ p. 93
- (43) DIMITRIADOU - TURNER - FRASER
Nature 1963 197 p. 446-449
- (44) FRISCHAUF - ALTMANN
Strahlentherapie Sonderbaende 1966 65 p. 3726
- (45) MORVAN
Anal. Chem. 1952 24 p. 378-384

- (46) ACLAND
J. of Clin. Pathol. 1958 11 p. 195-205
- (47) RONCHETTI
Il Lattante 1963 janvier fascicule I
- (48) MORI
Kanazawa Iragaku Sosho 1960 60 p. 57-73
- (49) HARDEN - MASON - BUCHANAN
J. of Clinical Endocr. and Metabolism 1965 25
p. 1295-1350
- (50) BRUGGER
J. Lab. Clin. Med. 1942 26
- (51) STOLC
Vnitřní Lekar 1960 6 p. 1295-1350

